

Установа адукацыі
«БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ
ТЭХНАЛАГІЧНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ»

ФІЗІЯЛОГІЯ РАСЛІН З АСНОВАМІ МІКРАБІЯЛОГІІ

*Рэкамендавана
вучэбна-метадычным аб'яднаннем
устаноў вышэйшай адукацыі Рэспублікі Беларусь
на адукацыі ў галіне прыродакарыстання
і лясной гаспадаркі ў якасці дапаможніка
да лабараторных заняткаў для студэнтаў
устаноў вышэйшай адукацыі па спецыяльнасцях
1-75 01 01 «Лясная гаспадарка»,
1-75 02 01 «Садова-паркавае будаўніцтва»*

Мінск 2012

УДК 581.1+631.461](175.8)

ББК 43.9я73

Б24

Рэцэнзенты:

кафедра фізіялогіі і біяхіміі раслін Беларускага дзяржаўнага
ўніверсітэта;

кандыдат біялагічных навук, дацэнт кафедры батанікі і асноў
сельскай гаспадаркі Беларускага дзяржаўнага педагагічнага
ўніверсітэта імя Максіма Танка *Ж. Э. Мазец*

Усе правы на дадзенае выданне абаронены. Узнаўленне ўсёй кнігі або яе часткі не можа быць ажыццёўлена без дазволу ўстановы адукацыі «Беларускі дзяржаўны тэхналагічны ўніверсітэт».

Баранаў, М. І.

Б24 Фізіялогія раслін з асновамі мікрабіялогіі : дапаможнік
да лабараторных заняткаў для студэнтаў спецыяльнасцей
1-75 01 01 «Лясная гаспадарка», 1-75 02 01 «Садова-парка-
вае будаўніцтва» / М. І. Баранаў, М. П. Каўбаса. – Мінск :
БДТУ, 2012. – 102 с.

ISBN 978-985-530-156-2.

Прыведзены лабараторныя работы па асноўных раздзелах курса «Фізіялогія раслін з асновамі мікрабіялогіі». Падрабязна выкладзены метадыкі іх выканання з выкарыстаннем сучасных лабараторных прыбораў і абсталявання, парадак апрацоўкі атрыманых эксперыментальных даных. Кожнай рабоце папярэдняе кароткі тэарэтычны матэрыял, у канцы даюцца кантрольныя пытанні для лепшага засваення і асэнсавання тэмы вывучаемай дысцыпліны.

УДК 581.1+631.461](175.8)

ББК 43.9я73

ISBN 978-985-530-156-2

© УА «Беларускі дзяржаўны

тэхналагічны ўніверсітэт», 2012

© Баранаў М. І., Каўбаса М. П., 2012

ПРАДМОВА

Пры вывучэнні дысцыпліны «Фізіялогія раслін з асновамі мікрабіялогіі» студэнты атрымліваюць веды пра жыццёвыя працэсы раслін і бактэрый, ролю глебавых мікраарганізмаў у жыцці раслін, неабходныя для прафесійнай дзейнасці спецыялістаў лясной і садова-паркавай гаспадаркі. Мэтай лабараторных заняткаў з'яўляецца паглыбленне ведаў па тэарэтычным курсе, набыццё навыкаў эксперыментальных даследаванняў.

Дадзены дапаможнік складзены ў адпаведнасці з дзеючай тыпавой праграмай, якая прадугледжвае для выканання лабараторнага практыкума 54 гадзіны. У дапаможнік уключана 35 пераважна двухгадзінных лабараторных работ па ўсіх раздзелах дысцыпліны. Гэта некалькі перавышае колькасць вучэбных заняткаў, але дае магчымасць выбіраць работы ў залежнасці ад абставін.

У большасці лабараторных прадугледжваецца выкарыстанне сучасных прыбораў і абсталявання, якія дазваляюць атрымліваць колькасныя ацэнкі вынікаў доследу. У шэрагу работ фізіялагічныя паказчыкі вызначаюцца ў дынаміцы альбо праводзіцца параўнальнае вывучэнне розных аб'ектаў, таму дадзеныя лабараторныя работы маюць даследчы характар. Ааналіз вынікаў рэкамендуецца здзяйсняць з выкарыстаннем графічных метадаў. Для лепшага засваення тэарэтычнага матэрыялу ў кожнай рабоце прыводзяцца кантрольныя пытанні, а ў канцы дапаможніка – спіс рэкамендаванай літаратуры.

Перад выкананнем лабараторных работ неабходна папярэдне азнаёміцца з тэарэтычным матэрыялам да адпаведнага раздзела і да дадзенай работы, з парадкам яе правядзення, засвоіць сутнасць метаду даследаванняў. Вынікі доследу афармляюцца ў асобным сшытку па наступнай форме: дата, нумар і назва работы, кароткае тэарэтычнае абгрунтаванне, мэта, ход работы, атрыманыя вынікі і вывады.

Пасля выканання ўсіх работ з раздзела праводзіцца гутарка, у ходзе якой студэнт павінен прадэманстраваць веданне тэарэтычных асноў і методык правядзення доследаў. Работа лічыцца закончанай пасля яе поўнага афармлення і паспяховай абароны.

Метадычныя ўказанні ў дапаможніку грунтуюцца на шматгадовым вопыце правядзення лабараторных работ у Беларускім дзяржаўным тэхналагічным універсітэце, выкарыстаны напрацоўкі вядучых ВНУ Рэспублікі Беларусь, у прыватнасці БДУ і БДПУ імя Максіма Танка, а таксама Расійскай Федэрацыі.

1. ФІЗІЯЛОГІЯ РАСЛІННАЙ КЛЕТКІ

Клетка з'яўляецца асноўнай структурнай і функцыянальнай адзінкай арганізма. На клетачным узроўні адбываецца большасць жыццёвых функцый (абмен рэчываў, фотасінтэз, дыханне, водаабмен, паглыннанне мінеральных рэчываў, рост і інш.), якія характэрныя для арганізма ў цэлым. Функцыі клеткі звязаны з дзейнасцю ферментаў і складанай прыжыццёвай структурай цытаплазмы.

Лабараторная работа № 1 УПЛЫЎ ЗНЕШНІХ ФАКТАРАЎ НА ПРАНІКАЛЬНАСЦЬ КЛЕТАЧНЫХ МЕМБРАН

Агульныя палажэнні. Мембраны складаюць больш за 2/3 сухой масы клетак і пабудаваны галоўным чынам з ліпідаў (пераважна фосфа- і глікаліпідаў) і бялкоў.

З мембранамі звязаны ўсе асноўныя праяўленні жыццядзейнасці клеткі: асматычнае паглыннанне вады, паглыннанне мінеральных элементаў, трансфармацыя энергіі і ўтварэнне адэназітрыфосфарнай кіслаты (АТФ) у працэсах фотасінтэзу і дыхання і інш. Мембраны акружаюць пратапласт клеткі і яе арганелы, дзеляць клетку на адсекі (кампартменты) і тым самым садзейнічаюць прасторавай упарадкаванасці біяхімічных працэсаў. Асобная роля належыць паверхневай мембране клеткі – *плазмалема*, якая выконвае ахоўную функцыю, удзельнічае ў абмене інфармацыяй паміж клеткамі, успрымае рэцэптарамі знешнія фізіка-хімічныя ўздзеянні, кантралюе паступленне рэчываў у клетку (валодае выбіральнай пранікальнасцю).

Асноўнымі функцыямі мембран у абагульненым выглядзе з'яўляюцца: рэгуляцыя паглынання і выдзялення рэчываў; арганізацыя ферментных і пігментных комплексаў, якія ўдзельнічаюць у фотасінтэзе, дыханні, сінтэзе розных рэчываў; перадача біяэлектрычных сігналаў па клетках і тканках арганізма.

Адной з найбольш агульных, неспецыфічных і хуткіх рэакцый клеткі на ўздзеянне розных знешніх фактараў з'яўляецца змяненне пранікальнасці мембран. Пранікальнасць мяняецца пры прарастанні насення, росце расліны, старэнні тканак, захаванні пладоў, унясенні ўгнаенняў, уздзеянні святла, тэмпературы, фітапатагенных арганізмаў і інш. Павышэнне пранікальнасці мембран, звязанае з уздзеяннем доз фактараў, якія выклікаюць пашкоджанні, абу-

моўлена дэгідратацыяй, парушэннем унутрымалекулярных сувязей і дэнатурацыяй малекул бялкоў, змяненнем стану ліпідаў (напрыклад, павышэннем ці паніжэннем вязкасці пад уплывам розных тэмператур).

Пранікальнасць мембран можа выкарыстоўвацца як паказчык устойлівасці раслін у экстрэмальных умовах.

Сутнасць метаду вызначэння пранікальнасці мембран заключаецца ў вызначэнні выхаду з клеткі розных рэчываў. У якасці аб'екта даследавання ў дадзенай рабоце выкарыстоўваецца караняплод харчовага бурака, у клетачным соку якога змяшчаецца гліказід бетацыянін. Бетацыянін афарбоўвае бурак у чырвоны колер. Пры павышэнні пранікальнасці мембран гліказід выходзіць з клетак, пераадольваючы *манапласт, цытаплазматычны матрыкс і плазмалему*. Ацаніць змяшчэнне бетацыяніну ў вонкавым растворе можна на фотаэлектракаларыметры альбо на спектрафатометры па велічыні аптычнай шчыльнасці. Аптычная шчыльнасць раствору прапарцыянальная пранікальнасці клетачных мембран.

Ход работы. Атрымаць коркавым свярдзёлкам дыяметрам 0,8–1,0 см цыліндрык з ачышчанага караняплода чырвонага бурака. Разрэзаць яго на дыскі аднолькавай таўшчыні (каля 2 мм). Падабраць 12 дыскаў аднолькавай афарбоўкі і старанна прамыць іх пад струменем вады ад рэшткаў клетак, выкарыстоўваючы лейку Бюхнера.

У адпаведнасці з варыянтамі доследу наліць у прабірку па 7 мл водаправоднай вады і доследных раствораў. Паставіць прабірку ў штатыў у пэўным парадку. Адно прабірку з вадой і прабірку з раствором цукрозы паставіць у вадзяную грэлку з тэмпературай 35°C. Наліць з прабірки чацвёртага варыянта каля 1,0–1,5 мл вады ў пустую прабірку і паставіць яе ў кіпячую вадку.

Прамытыя дыскі змясціць па 2 шт. у доследныя прабіркі, акрамя чацвёртай, а таксама ў прабірку з кіпячай вадой. Праз 1 хвіл змесціва гэтай прабірки пераліць назад у чацвёртую прабірку.

Варыянт доследу	Аптычная шчыльнасць раствору			
	зыходная	праз 15 хвіл	праз 30 хвіл	праз 45 хвіл
1. Вада пры пакаёвай тэмпературы (кантроль)	0,00			
2. Вада пры 35°C	0,00			
3. Короткачасовае кіпячэнне	0,00			
4. 30%-ная воцатная кіслата	0,00			
5. 50%-ны этылавы спірт	0,00			

Праз кожныя 15 хвіл тройчы вызначыць на ФЭКУ аптычную шчыльнасць раствораў у прабірках (святлафільтр сіні, $\lambda = 440$ нм), папярэдне перамяшаўшы іх. Пасля кожнага вымярэння раствору зліваць назад у прабірку. Каларыметраванне праводзяць адносна чыстай вады, па якой прыбор устанаўліваецца на нуль.

Вынікі вымярэнняў запісаць па форме прыведзенай вышэй табліцы.

Пабудаваць графік змянення аптычнай шчыльнасці раствораў. Параўнаць атрыманыя вынікі паміж сабой, а таксама з варыянтамі № 1 – кантроль і № 4 – кіпячэнне (характар уздзеяння на мембраны даследуемых фактараў у гэтых варыянтах відавочны). Адзначыць дынаміку змянення аптычнай шчыльнасці клетак. Растлумачыць механізм уздзеяння на мембраны вывучаемых фактараў і ацаніць вынікі ўздзеяння для жывой клеткі. Зрабіць адпаведныя вывады.

Абсталяванне і матэрыялы: прабірка (7 шт.); штатыў для прабірак; коркавы свярдзёлак; лязо бяспечнай брытвы; піпетка на 2 мл; мерны цыліндр на 10 мл; лейка Бюхнера; вадзяная грэлка; пінцэт; ФЭК; 0,5М раствор цукрозы; 30%-ная воцатная кіслата; 50%-ны этылавы спірт; чырвоны бурак.

Кантрольныя пытанні. Да якой групы рэчываў (першасных ці другасных) адносіцца бетацыянін? Дзе ў клетцы змяшчаецца бетацыянін? Чаму бетацыянін не выходзіць у ваду з жывой клеткі? Якія мембраны клеткі з'яўляюцца перашкодай для выхаду бетацыяніну з клеткі? Што ўяўляе сабой клетачная мембрана? Назавіце асноўныя функцыі клетачных мембран. У чым сутнасць метаду вызначэння ўплыву розных фактараў на пранікальнасць мембран? Чаму і як мяняецца пранікальнасць мембран пад уздзеяннем розных фактараў? Які механізм змянення пранікальнасці пад уздзеяннем тэмпературы (высокай ці нізкай), арганічных растваральнікаў, кіслот?

Лабараторная работа № 2

ПРАНІКАЛЬНАСЦЬ ЦЫТАПЛАЗМЫ

ЖИВЫХ КЛЕТАК

Агульныя палажэнні. Цытаплазма клеткі валодае складанай прыжыццёвай структурай, з якой звязаны яе ўласцівасці і функцыі. Найважнейшая з іх – выбіральная пранікальнасць. Жывая цытаплазма прапускае ў вакуолі вітальныя фарбавальнікі, якімі і афарбоўваецца клеткавы сок. Пасля гібелі або пашкоджання клет-

кі змяняецца натыйная (прыжыццёвая) структура бялкоў і фарбавальнікі затрымліваюцца ў самой цытаплазме. У выніку цытаплазма і ядро набываюць адпаведную афарбоўку. Павышэнне роднасці да фарбавальнікаў з'яўляецца прыкметай пашкоджання клеткі.

Ход работы. Кавалачак эпідэрмісу лускі сінняй цыбулі змясціць у бюкс са слабым раствором (1 : 1000) нейтральнага чырвонага на 20 хвіл. Па заканчэнні часу афарбаваную тканку перанесці на прадметнае шкло ў кроплю вады і закрыць покрывным шклом. Разгледзець прэпарат пры малым, затым пры вялікім павелічэнні. Адзначыць афарбоўку вакуолі, цытаплазмы і ядра.

Не здымаючы прэпарата са століка мікраскопа, адсмактаць ваду з-пад покрывнага шкла з дапамогай фільтравальнай паперы. Пад шкло ўвесці кроплю раствора 1М KNO_3 . Назіраць плазмоліз клетак і зрабіць вывад пра іх жыццяздольнасць. Малінавы колер вакуолі сведчыць пра кіслую рэакцыю клеткавага соку.

Каб прасачыць за зменамі ў клетцы пры яе пашкоджанні і гібелі, ужываецца аміяк, які з'яўляецца моцным ядам. Для гэтага адцягнуць фільтравальнай паперай з-пад покрывнага шкла KNO_3 і дадаць кроплю 10%-нага раствора аміяку. Афарбоўка адразу становіцца жоўтай, таму што ў прысутнасці аміяку кіслая рэакцыя клеткавага соку змянілася на шчолачную (у шчолачным асяроддзі нейтральны чырвоны мае жоўты колер). У клетках, якія загінулі пад дзеяннем аміяку, цытаплазма і ядро набываюць бачную ў мікраскоп структуру і афарбоўваюцца ў жоўта-буры колер.

Замалюваць жывыя клеткі цыбулі, якія назапасілі нейтральны чырвоны ў вакуолі; клеткі, плазмалізаваныя ў 1М KNO_3 ; мёртвыя клеткі з афарбаванымі цытаплазмай і ядром. Зрабіць вывады пра змену структуры і пранікальнасць цытаплазмы клетак.

Абсталяванне і матэрыялы: лязо брытвы; прэпаравальная іголка; шклянкі з вадой; шкляная палачка; фільтравальная папера; пінцет; шкляныя бюксы; прадметнае і покрывнае шкло; мікраскоп; цыбуліна; растворы нейтральнага чырвонага (1 : 1000); 1М KNO_3 ; 10%-ны NH_4OH у кропельніцах.

Кантрольныя пытанні. Якім метадам у рабоце вызначаецца жыццяздольнасць цытаплазмы? Чаму фарбавальнік, які не затрымліваецца ў цытаплазме жывой клеткі, афарбоўвае яе ў мёртвай клетцы? Паказаць ролю структуры цытаплазмы ў жыццядзейнасці клеткі. Навошта ў доследзе выкарыстоўваецца аміяк? Які вывад пра стан цытаплазмы можна зрабіць пры назіранні плазмолізу? У якіх клетках – жывых ці мёртвых – назіраецца плазмоліз?

Лабараторная работа № 3 ЗАЛЕЖНАСЦЬ АКТЫЎНАСЦІ АМІЛАЗЫ АД КІСЛОТНАСЦІ І ТЭМПЕРАТУРЫ АСЯРОДДЗЯ

Агульныя палажэнні. Адною з уласцівасцей жывой матэрыі з'яўляецца *абмен рэчываў* (метабалізм) – сукупнасць хімічных ператварэнняў, якія адбываюцца ў жывых арганізмах і забяспечваюць іх жыццядзейнасць. Абмен рэчываў уключае два ўзаемазвязаныя, але процілеглыя накіраваныя працэсы – *асіміляцыю* (анабалізм) і *дысіміляцыю* (катабалізм). У ходзе анабалічных ператварэнняў адбываецца сінтэз арганічных злучэнняў. У працэсе дысіміляцыі ажыццяўляецца распад складаных арганічных рэчываў да простых, які суправаджаецца выдзяленнем энергіі. Галоўным анабалічным працэсам з'яўляецца фотасінтэз, а катабалічным – дыханне.

Усе біяхімічныя рэакцыі абмену рэчываў каталізуюцца ферментамі, якія забяспечваюць таксама іх узаемасувязь і ўпарадкаванасць. Дзейнасць ферментаў характарызуецца *ферментатыўнай актыўнасцю* – змяненнем колькасці прадуктаў біяхімічнай рэакцыі за адну секунду на адзін грам расліннай тканкі, у якой змяшчаецца вывучаемы фермент (гл. лаб. работу № 16). Змяненне колькасці прадуктаў біяхімічнай рэакцыі за адзінку часу ёсць *хуткасць ферментатыўнай рэакцыі*. Хуткасць рэакцыі залежыць ад колькасці і актыўнасці ферменту, канцэнтрацыі субстрату, а таксама ад фактараў, якія ўплываюць на актыўнасць ферментаў (наяўнасць інгібітараў і актыватараў, тэмпература і рН асяроддзя, у якім адбываецца ферментатыўная рэакцыя).

Мэтай работы з'яўляецца вызначэнне залежнасці актыўнасці амілазы ад кіслотнасці асяроддзя і тэмпературы. Гэты фермент каталізуе працэс гідролізу крухмалу.

Ход работы. У чатыры прабіркі ўнесці па 3 мл 0,2Н ацэтат-нага буферу з рН 3,8 (першая прабірка), рН 5,5 (другая, трэцяя і чацвёртая прабіркі). Прыліць ва ўсе прабіркі па 3 мл 2%-нага раствору крухмалу. Змясціць прабіркі № 1 і 2 у вадзяную грэлку з тэмпературай 40°C. Трэцяя і чацвёртая прабіркі застаюцца пры пакаёвай тэмпературы (каля 18°C).

Пасля дасягнення субстратам тэмпературы грэлкі ўнесці ў прабіркі № 1, 2 і 3 па 0,5 мл загадзя падрыхтаванага прэпарату ферменту, сумесь перамяшаць. У чацвёртую, кантрольную, пра-

бірку замест ферментнай выцяжкі ўліць 0,5 мл вады. Адзначыць час пачатку доследу.

У колбы ёмістасцю 50 мл наліць да паловы вады, па 1 мл 0,1N HCl і па 5 кропель 0,3%-нага раствору ёду ў раствору KI.

Праз 30 хвіл пасля пачатку доследу ва ўсе прабіркi ўнесці па 2 мл 1N раствору HCl для спынення рэакцыі і змесціва перамяшаць. Узяць з кожнай прабіркi па 0,5 мл сумесі, унесці ў адпаведныя мерныя колбы з растворам ёду і даліць ваду да меткі. Вызначыць аптычную шчыльнасць доследных і кантрольнага раствораў на ФЭКу пры чырвоным святлафільтры альбо на спектрафатометры пры $\lambda = 595$ нм. Перыяд часу ад пачатку афарбоўвання да каларыметравання для кожнай колбы павінен быць аднолькавым (каля 3 хвіл), таму афарбоўванне сумесей у колбах неабходна праводзіць з указаным інтэрвалам.

Актыўнасць амілазы разлічыць па формуле

$$A = 4(D_K - D_0)C / D_K,$$

дзе A – актыўнасць амілазы ў міліграмах гідралізаванага крухмалу за 1 гадз на 1 мл ферментнай выцяжкі, мг/(гадз·мл); 4 – пераразліковы каэфіцыент на 1 гадз і 1 мл; D_K і D_0 – аптычная шчыльнасць кантрольнага і доследных раствораў; C – колькасць унесенага крухмалу (3 мл 2%-нага крухмалу змяшчаюць 60 мг).

Даныя запісаць у табліцу па наступнай форме:

Варыянт доследу	Тэмпература, °C	pH асяроддзя інкубацыі	Аптычная шчыльнасць D_{595}	Актыўнасць амілазы, мг/(гадз·мл)
1	40	3,8		
2	40	5,5		
3	18	5,5		
4	Кантроль			—

Параўнаць актыўнасць ферменту пры аднолькавай тэмпературы і розных значэннях pH, пры аднолькавай кіслотнасці і рознай тэмпературы. Зрабіць вывады пра уплыў даследуемых фактараў на актыўнасць ферменту. Паказаць, які з фактараў робіць больш моцнае ўздзеянне на амілазу. Вызначыць найбольш аптымальныя ўмовы для дзейнасці ферменту. Раствумаць механізм уздзеяння тэмпературы і кіслотнасці асяроддзя на актыўнасць ферменту.

Абсталяванне і матэрыялы: ФЭК; грэлка вадзяная; прабіркі (4 шт.); штатыў; піпеткі на 10 мл (3 шт.); на 1 мл (3 шт.); колбы на 50 мл (4 шт.); 0,2Н ацэтатны буфер з рН 3,8 і рН 5,5; 2%-ны раствор крухмалу; 0,1Н раствор HCl; 0,3%-ны раствор I у KI, раствор амілазы (солад).

Кантрольныя пытанні. Што ёсць метабалізм? Якія накірункі абмену рэчываў выдзяляюць? Якія функцыі выконваюць ферменты? Даць азначэнні і прывесці формулы ферментатыўнай актыўнасці расліннай тканкі і хуткасці ферментатыўнай рэакцыі. Ад якіх фактараў і як залежаць хуткасць ферментатыўнай рэакцыі і актыўнасць ферментаў? Як і чаму мяняецца актыўнасць амілазы пры змяненні тэмпературы і кіслотнасці? Якая функцыя амілазы? Як і чаму залежыць ад тэмпературы рост расліны?

2. ВОДНЫ АБМЕН

Водны абмен уключае працэсы паглынання, перамяшчэння па расліне і транспірацыі (выпарвання) вады.

Вада складае ў сярэднім 70–90% сырой масы расліны. Роля яе ў жыцці раслін выключна вялікая. Вада – асяроддзе і ўдзельнік біяхімічных рэакцый, кампанент структуры цытаплазмы. Вада падтрымлівае тургесцэнтны стан клетак (гл. лаб. работу № 4), з’яўляецца сродкам тэрмарэгуляцыі. У вадзе раствараны і з ёй перамяшчаюцца па расліне пажыўныя рэчывы.

Ад вады ў большай ступені, чым ад іншых экалагічных фактараў, залежаць жыццёвыя працэсы і прадукцыйнасць раслін. У сувязі з гэтым у раслінаводстве вялікае значэнне маюць пытанні аптымізацыі воднага рэжыму.

Вывучэнне працэсаў воднага абмену складае асноўную задачу лабараторных работ дадзенага раздзела.

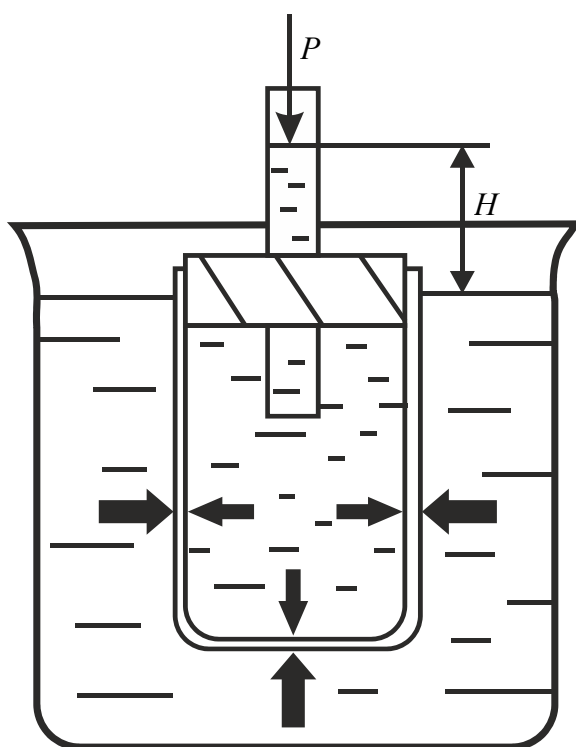
Лабараторная работа № 4 АСМАТЫЧНЫ ПАТЭНЦЫЯЛ КЛЕТАЧНАГА СОКУ (паводле Дэ Фрыза)

Агульныя палажэнні. Осмас з’яўляецца фізічнай асновай працэсу паглынання вады жывой клеткай. Пад *осмасам* разумеюць дыфузію малекул вады з раствору малой канцэнтрацыі ў раствор з большай канцэнтрацыяй праз паўпранікальную перагародку, якая раздзяляе гэтыя растворы.

Аднабаковы цёк вады праз паўпранікальную перагародку адбываецца з прычыны неаднолькавай актыўнасці яе малекул у растворах. Найбольшая кінетычная энергія і, як вынік, актыўнасць уласцівыя малекулам чыстай вады. Яе водны патэнцыял Ψ (паказчык, які фактычна з’яўляецца мерай актыўнасці вады) умоўна прымаецца за нуль $\Psi = 0$. У растворах актыўнасць паніжаецца прапарцыянальна іх канцэнтрацыі, паколькі малекулы вады з’яўляюцца дыполямі і звязваюцца часціцамі растваранага рэчыва. Водны патэнцыял становіцца адмоўным $\Psi < 0$. У сувязі з гэтым колькасць дыфундаваных праз паўпранікальную перагародку малекул вады з малаканцэнтраванага раствору ў раствор з большай канцэнтрацыяй перавышае колькасць малекул, якія пранікаюць у процілеглым накірунку (мал. 1). Вада ў сістэме перацякае ад

высокага патэнцыялу да нізкага. У выніку аднабаковага перацякання вады ўзнікае рознасць узроўняў (H) і ствараецца лішак гідрастатычнага ціску. Пры дасягненні велічыні сілы дыфузіі гідрастатычны ціск ураўнаважвае апошнюю.

Сіла дыфузнага ціску, якая абумоўлівае перанос малекул вады праз паўпранікальную перагародку ў больш канцэнтраваны раствор, называецца *асматычным ціскам*. Колькасца ён аднолькавы з сілай P , якую неабходна прыкладсці да раствору, каб спыніць дыфузію ў яго вады. Асматычны ціск праяўляецца толькі ў сістэме з двух раствораў рознай канцэнтрацыі, раздзеленых паўпранікальнай мембранай. Асобны раствор валодае патэнцыяльным ціскам.



Мал. 1. Асмаметр

Велічыня патэнцыяльнага асматычнага ціску залежыць ад канцэнтрацыі раствору, тэмпературы і разлічваецца па ўраўненні Вант-Гофа:

$$P = RTC_i,$$

дзе P – патэнцыяльны асматычны ціск, МПа; R – універсальная газавая пастаянная, роўная $0,00831 \text{ КДж}/(\text{моль} \cdot ^\circ\text{К})$; T – абсалютная тэмпература ($T = 273 + t^\circ\text{C}$); C – малярная канцэнтрацыя

раствору, моль/л; i – ізатанічны каэфіцыент, які ўлічвае колькасць часціц у раствору з прычыны электралітычнай дысацыяцыі, $i = 1 + \alpha(n - 1)$, дзе α – ступень электралітычнай дысацыяцыі; n – колькасць іонаў у малекуле электраліту (для неэлектралітаў $i = 1$).

У сучаснай літаратуры выкарыстоўваецца паказчык *асматычны патэнцыял* (Ψ_π), які з’яўляецца кампанентам воднага патэнцыялу і характарызуе зніжэнне актыўнасці вады часцінкамі растворанага рэчыва. Асматычны патэнцыял разлічваецца па прыведзенай вышэй формуле, але мае адмоўны знак:

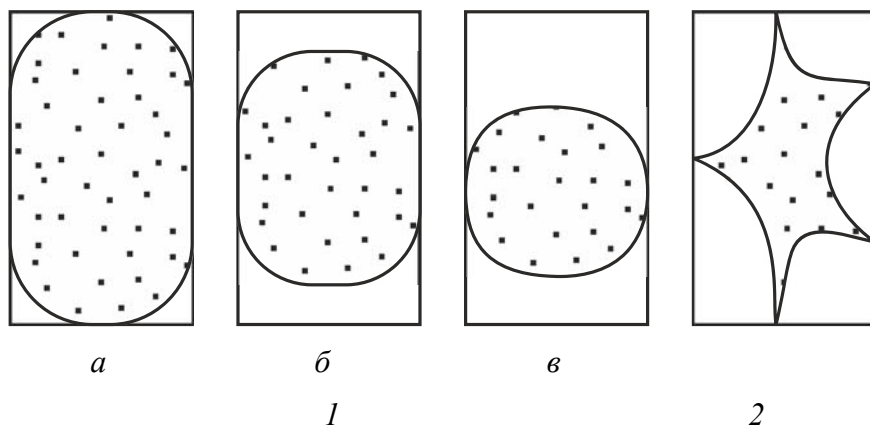
$$\Psi_\pi = -RTCi.$$

Значэнні i для раствораў NaCl рознай малярнасці прыведзены ў табліцы.

Канцэнтрацыя NaCl, моль/л	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10
Ізатанічны каэфіцыент	1,64	1,66	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83

Жывая клетка таксама з’яўляецца асматычнай сістэмай. Ролю паўпранікальнай перагародкі выконваюць цытаплазматычныя мембраны – плазмалема, танапласт і цытаплазма, асматычна актыўнага раствору – сок вакуолі. Раствор вакол клеткі можа быць *гіпертанічным*, г. зн. больш канцэнтраваным, чым клетачны сок, *гіпатанічным* – з меншай канцэнтрацыяй і *ізатанічным* – аднолькавым па канцэнтрацыі з клетачным сокам. Нармальная жыццядзейнасць клеткі магчыма толькі ў гіпатанічным раствору, з якога клетка здольна паглынаць ваду. У гіпертанічным раствору вада будзе выходзіць з клеткі.

У выніку страты вады клеткай цытаплазма скарачаецца і адстае ад клетачнай абалонкі, а прастора паміж імі запаўняецца вонкавым раствором. Гэтая з’ява называецца *плазмолізам*. У пачатковай стадыі плазмолізу назіраецца нязначнае адставанне цытаплазмы ў вуглах клеткі (вугалковы плазмоліз). Вугалковы плазмоліз сведчыць пра тое, што канцэнтрацыя вонкавага раствору, а таксама яго патэнцыяльны асматычны ціск нязначна перавышаюць гэтыя ж паказчыкі клетачнага соку. У больш канцэнтраваных растворах можна назіраць сярэдні ці моцны плазмоліз, які ў залежнасці ад вязкасці цытаплазмы бывае выпуклым ці ўвагнутым (сутаргавым) (мал. 2). У ізатанічным раствору не назіраецца ні плазмолізу, ні прыцёку вады ў клетку.



Мал. 2. Віды плазмолізу:

1: *а* – вугалковы; *б* – сярэдні; *в* – моцны; 2 – сутаргавы

Сутнасць плазмалітычнага метаду вызначэння асматычнага патэнцыялу клетачнага соку заключаецца ў знаходжанні ізатанічнага раствору. Для гэтага зрэзы доследнай тканкі апускаюць у растворы плазмалітыку вядомай канцэнтрацыі. Адшукваюць раствор, у якім адбываецца вугалковы плазмоліз. Лічыцца, што ізатанічная канцэнтрацыя знаходзіцца паміж канцэнтрацыяй раствору, у якім адбываецца вугалковы плазмоліз не менш чым ў 50% клетак, і канцэнтрацыяй раствору, у якім плазмоліз не адбываецца. Па канцэнтрацыі ізатанічнага раствору можна разлічыць, выкарыстоўваючы прыведзеную формулу, яго патэнцыяльны асматычны ціск ці асматычны патэнцыял, якія будуць адпавядаць ціску (патэнцыялу) клетачнага соку.

Ход работы. Прыгатаваць у прабірках па 10 мл раствораў NaCl наступных канцэнтрацый: 0,8 М; 0,6 М; 0,4 М; 0,3 М; 0,2 М; 0,1 М. Для гэтага разбавіць малярны раствор плазмалітыку дыстыляванай вадой, дакладна дазуючы кампаненты з дапамогай бюрэткі. Каб атрымаць 0,8 М рабочы раствор, неабходна ўзяць 8 мл 1 М раствору і 2 мл вады, для 0,6 М – 6 мл 1 М раствору і 4 мл вады і г. д. Растворы перамяшаць і адліць невялікую колькасць кожнага з іх у адпаведныя бюксы.

Лязом бяспечнай брытвы прыгатаваць зрэзы доследнай тканкі (па 2 шт. на кожны бюкс) размерам каля 3×3 мм. Аб'ектамі даследавання могуць быць эпідэрміс ліста цыбулі, лісця пакаёвых раслін і інш. Пры выкарыстанні скуркі марфалагічна верхняга боку ліста цыбулі выключаецца неабходнасць рабіць тонкія зрэзы, таму што яна складаецца толькі з аднаго слоя клетак. У гэтым выпадку на ўвагнутым баку часткі ліста зрабіць падоўжныя і папярочныя

неглыбокія надрэзы. Зняць прэпаравальнай іголкай кавалачкі эпідэрмісу і хутка перанесці іх у дыстыляваную ваду на гадзіннікавае шкло. Потым перанесці па два зрэзы ў рабочыя растворы ў бюксы, пачынаючы з самага канцэнтраванага. Калі зрэзы не патанулі, пакласці на іх маленькія кавалачкі фільтравальнай паперы.

Аб'ект даследавання	Канцэнтрацыя раствора NaCl, М	Ступень плазмолізу	Танічнасць раствора	Ізатанічная канцэнтрацыя, М	Асматычны патэнцыял Ψ_{π} , МПа
	0,8				
	...				
	0,1				

Праз 20–30 хвіл даследаваць тканкі ў той жа паслядоўнасці пад мікраскопам. Разглядаць зрэз неабходна ў кроплі таго раствора, адкуль ён быў узят. Вызначыць ступень плазмолізу клетак (вугалковы, сярэдні, моцны) і танічнасць вонкавага раствора (гіпер-, гіпатанічны); знайсці ізатанічную канцэнтрацыю як сярэдняе арыфметычнае паміж канцэнтрацыяй, пры якой плазмоліз толькі пачынаецца, і канцэнтрацыяй, якая ўжо не выклікае плазмолізу. Разлічыць патэнцыяльны асматычны ціск.

Вынікі доследу запісаць па прыведзенай вышэй форме табліцы.

Зрабіць малюнкi клетак з рознай ступенню плазмолізу. Параўнаць патэнцыяльны асматычны ціск з данымі, прыведзенымі ў лаб. рабоце № 5, вызначыць экалагічную групу, да якой належыць аналізуемая расліна. Адзначыць залежнасць ступені плазмолізу ад канцэнтрацыі раствора, даць тлумачэнні.

Абсталяванне і матэрыялы: бюрэткі з лейкамі ў штатыве (2 шт.); прабіркi (6 шт.); бюксы (6 шт.) у штатыве; шкляныя палачкі (2 шт.); прэпаравальныя іголкi (2 шт.); гадзіннікавае шкло; скальпель; лязо бяспечнай брытвы; мікраскоп; прадметнае і покрывнае шкло; шклянка; тэрмометр; фільтравальная папера; дыстыляваная вада; 1М раствор NaCl; цыбуліна ці лісты пакаёвых раслін.

Кантрольныя пытанні. Што ёсць осмас? Роля осмасу ў жывой клетцы? Назавіце кампаненты асматычнай сістэмы. Што з'яўляецца паўпранікальнай мембранай у асматычнай сістэме «клетка – вонкавы раствор»? Што азначае паказчык водны патэнцыял? Што з'яўляецца рухальнай сілай малекул пры асматычным перацяканні вады? Па якой формуле разлічваецца асматычны патэнцыял раствора?

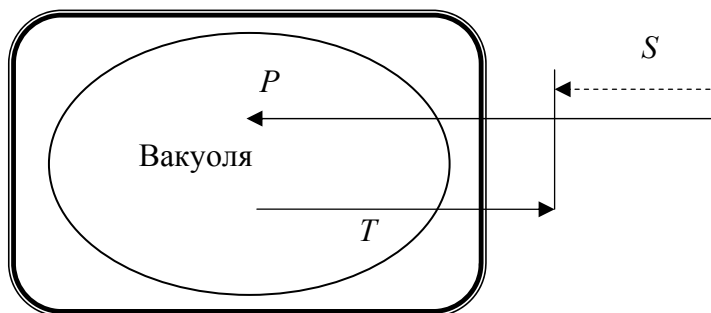
Чаму водны патэнцыял раствору ніжэй за нуль? На якую велічыню адрозніваецца водны патэнцыял раствору ад воднага патэнцыялу чыстай вады? Што ўяўляе сабой асматычны ціск? У чым заключаецца сутнасць метаду вызначэння асматычнага патэнцыялу клетачнага соку? Растлумачце з'яву плазмолізу. Назавіце віды плазмолізу і растлумачце паняцці іза-, гіпа- і гіпертанічнасць раствору.

Лабараторная работа № 5 ВОДНЫ ПАТЭНЦЫЯЛ КЛЕТКІ

Агульныя палажэнні. У гіпатанічным раствору клетка паглынае ваду (гл. лаб. работу № 3). Па меры насычэння яе вадой цытаплазма павялічваецца ў аб'ёме і цісне на клетачную абалонку. Абалонка, якая валодае эластычнасцю, расцягваецца да нейкай мяжы і аказвае паступленню вады ў клетку процідзеянне, якое пастаянна ўзрастае.

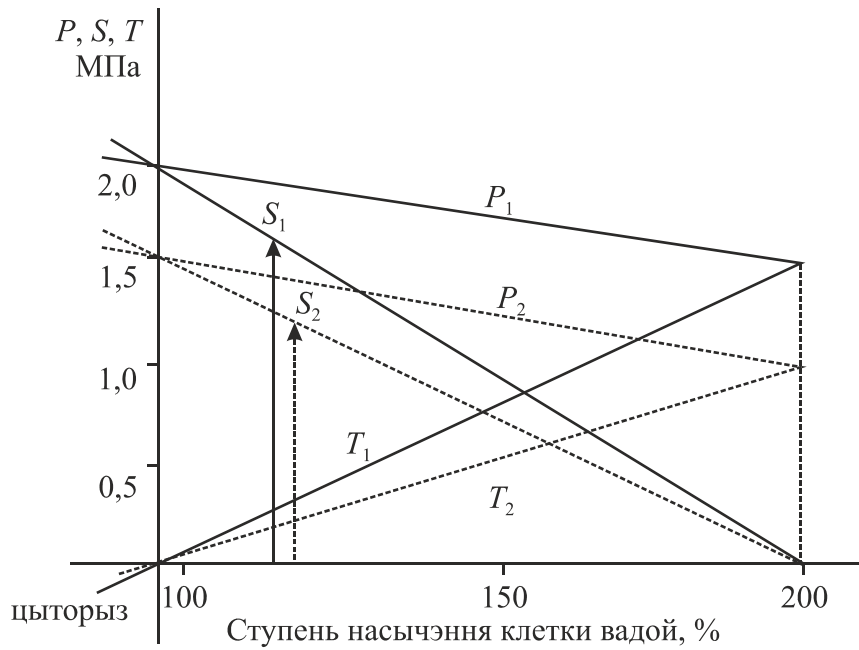
Пры поўным расцягванні клетачнай абалонкі эндаосмас вады спыняецца. Напружаны стан насычанай вадой клеткі называецца *тургарам*, а гідрастатычны ціск у клетцы, які абумоўлены супраціўленнем клетачнай абалонкі, – *тургарным ціскам* (T).

Тургарны ціск процілеглы па знаку асматычнаму. У насычанай вадой клетцы асматычны ціск ураўнаважаны тургарным ($P = T$) і вада ў клетку не паступае. У стане няпоўнага насычэння асматычны ціск большы за тургарны на нейкую велічыню S : $P = T + S$, ці $S = P - T$. Велічыня S , якая ўяўляе сабой частку асматычнага ціску, нескампенсаванага тургарным, называецца *сілай усмоктвання* (мал. 3).



Мал. 3. Сілы, якія ўзнікаюць пры асматычным усмоктванні вады клеткай

Сіла усмоктвання роўная асматычнаму ціску толькі на пачатковым этапе паглынання вады (мал. 4), калі клетка значна абязводжана ($T = 0$; $S = P$).



Мал. 4. Залежнасць P , S , T ад ступені насычэння клеткі вадой

Па меры насычэння клеткі S памяншаецца (T расце) і становіцца роўнай нулю ў стане поўнага насычэння ($T = P$; $S = 0$).

Паняццям *сіла ўсмоктвання клеткі* і *тургарны ціск* адпавядаюць тэрмадынамічныя паказчыкі *водны патэнцыял клеткі* $\Psi_{\text{кл}}$ (гл. лаб. работу № 4) і *тургарны патэнцыял* $\Psi_{\text{р}}$. Патэнцыял ціску характарызуе павышэнне актыўнасці вады пад уздзеяннем унутрыклетачнага ціску і з'яўляецца дадатнай велічынёй. Водны патэнцыял клеткі вызначаецца як алгебраічная сума асматычнага і гідрастатычнага патэнцыялаў, узятых з адпаведнымі знакамі:

$$\Psi_{\text{кл}} = \Psi_{\pi} + \Psi_{\text{р}}.$$

Пры завяданні расліны $\Psi_{\text{р}} = 0$ і $\Psi = \Psi_{\pi}$. Пры поўным насычэнні клетак вадой $\Psi_{\text{р}} = \Psi_{\pi}$ і $\Psi_{\text{кл}} = 0$.

На велічыню сілы ўсмоктвання (воднага патэнцыялу) клеткі ўплываюць знешнія ўмовы, якія вызначаюць ступень насычанасці клетак вадой (умовы водазабеспячэння, дзеянне водаадымальных сіл і інш.). Велічыня S ($\Psi_{\text{кл}}$) залежыць таксама ад патэнцыяльнага асматычнага ціску клетачнага соку (унутраны, біялагічны фактар). Пры аднолькавым насычэнні вадой S_1 клетак раслін з большым патэнцыяльным асматычным ціскам P_1 перавышае S_2 клетак з меншым P_2 (мал. 4). Патэнцыяльны асматычны ціск гідрафітаў дасягае 0,1 МПа, гіграфітаў – 0,5–0,8, мезафітаў – 1,0–1,5, ксерафітаў – 1,5–2,5, а галафітаў –

каля 5–10 МПа, у сувязі з чым гэтыя расліны характарызуюцца рознай устойлівасцю да засухі.

Сутнасць дадзенага метаду вызначэння воднага патэнцыялу заключаецца ў выяўленні раствору вядомай канцэнтрацыі, астматычны патэнцыял якога быў бы роўны воднаму патэнцыялу клетак (Ψ_{π} раствору = Ψ клеткі ці P раствору = S клеткі). Гэта такі раствор, канцэнтрацыя якога не мяняецца пры апусканні ў яго расліннага аб'екта, таму што ў гэтым выпадку не адбываецца ні паглынання вады клеткамі, ні адсмоктвання вады з клетак. У той жа час у іншых растворах могуць быць наступныя суадносіны астматычнага патэнцыялу і воднага патэнцыялу клетак: Ψ_{π} раствору $>$ Ψ клеткі (P раствору $<$ S клеткі) і Ψ_{π} раствору $<$ Ψ клеткі (P раствору $>$ S клеткі). У першым выпадку клеткі будуць усмоктваць ваду з раствору і канцэнтрацыя яго павялічыцца. У другім выпадку клеткі будуць аддаваць ваду і раствор разбавіцца.

Змяненне канцэнтрацыі вызначаецца з дапамогай рэфрактометра ці іншым метадам. Рэфрактаметрычны метадад заснаваны на змяненні паказчыка праламлення праменя святла на мяжы дзвюх фаз: шкла прызмы прыбора і раствору. Паказчык праламлення залежыць ад тэмпературы, прыроды доследнага рэчыва і яго канцэнтрацыі. Залежнасць ад канцэнтрацыі мае лінейны характар.

Ход работы. Прыгатаваць у прабірках з 1М раствору цукрозы ці харчовай солі па 10 мл 0,1М; 0,2М; 0,3М; 0,4М і 0,5М рабочых раствораў (парадак прыгатавання гл. у лаб. рабоце № 4), размяшчаць іх і размясціць прабіркі ў штатыве. Перанесці піпеткай па 1 мл раствору кожнай канцэнтрацыі ў адпаведныя прабіркі другога рада. Для кожнага раствору выкарыстоўваць асобную піпетку. Папярэдне прамыць піпеткі і прабіркі прыгатаванымі растворамі. Колькасць раствораў у прабірках другога рада павінна быць аднолькавай з дакладнасцю да адной кроплі.

Коркавым свярдзёлкам прыгатаваць доследныя ўзоры расліны, якія павінны быць атрыманы з аднародных тканак і мець аднолькавую масу ў кожным варыянце доследу. Калі выкарыстоўваюцца лісты, нельга захопліваць буйныя жылкі. Пры вывучэнні мясістых тканак з іх спачатку высыкаюцца цыліндрыкі, якія потым разразаюцца лязом на дыскі таўшчыняй 2 мм.

Высечкі тканак хутка перанесці ў прабіркі другога рада на 30–40 хвіл. Нельга дапускаць падсушвання ўзораў. Колькасць высечак павінна быць аднолькавай ва ўсіх прабірках (не менш за 7 шт. для лістоў). Прабіркі неабходна перыядычна асцярожна ўстрэс-

ваць для перамешвання раствораў. Сачыць, каб тканкі ўвесь час знаходзіліся ў растворах.

Пасля заканчэння ўказанага часу вызначыць рэфрактометрам канцэнтрацыі зыходных і рабочых раствораў у працэнтах ці паказчыках праламлення. Знайсці раствор, канцэнтрацыя якога не змянілася. Пры адсутнасці ў шэрагу доследных такога раствора нязменная канцэнтрацыя вызначаецца як сярэдняе арыфметычнае паміж канцэнтрацыяй, якая павялічылася, і наступнай канцэнтрацыяй, якая паменшылася.

Канцэнтрацыю раствора можна вызначыць таксама метадам струменяў (паводле В. С. Шардакова). Для гэтага рабочыя растворы падфарбаваць метыленавым сінім, укінуўшы ў кожную прабірку па некалькі крышталікаў фарбавальніка. Піпеткай з вострым носікам узяць падфарбаваны раствор і апусціць піпетку ў адпаведны зыходны раствор на глыбіню 1,0–1,5 см. Павольна выпусціць вадкасць з піпеткі і вызначыць накірунак руху струменя падфарбаванага раствора. Калі струмень пойдзе ўніз – гэта значыць, што раствор стаў больш канцэнтраваным і шчыльнасць яго павялічылася. У адваротным выпадку – канцэнтрацыя раствора паменшылася. Пры роўнасці канцэнтрацый зыходнага і рабочага раствораў струмень застанецца на месцы.

Велічыню воднага патэнцыялу (сілы ўсмоктвання) разлічыць па формуле, прыведзенай у лаб. рабоце № 4. Вынікі доследу запісаць па наступнай форме:

Аб'ект даследавання	Зыходная канцэнтрацыя раствораў, М	Паказчыкі рэфрактометра		Канцэнтрацыя, якая засталася нязменнай, М	Водны патэнцыял клеткі Ψ , МПа
		для зыходных раствораў	для раствораў з высечкамі		
	0,1				
	...				
	0,5				

Зрабіць вывады пра велічыню воднага патэнцыялу клетак (малы, сярэдні, вялікі), ступень насычанасці клетак вадой. Растлумачыць прычыны зніжэння канцэнтрацыі адных раствораў і павышэння іншых.

Абсталяванне і матэрыялы: бюрэткі з лейкамі ў штатыве; прабіркі (10 шт.) у штатыве; піпеткі на 1 мл (5 шт.); свярдзёлак коркавы дыяметрам 0,8–1,0 см; шклянныя палачкі (2 шт.); рэфракто-

метр; фільтравальная папера; пінцэт; 1М раствор цукрозы ці харчовай солі; метыленавы сіні; дыстыляваная вада; лісты раслін.

Кантрольныя пытанні. Што ёсць водны патэнцыял клеткі, тургарны ціск і сіла ўсмоктвання? Што характарызуюць астматычны і гідрастатычны патэнцыялы клеткі? Растлумачце накірункі вектараў P , T , S . Прывядзіце формулу ўзаемасувязі P , T , S і графік залежнасці іх ад ступені насычанасці клеткі вадой. Як разлічваюцца водны патэнцыял і сіла ўсмоктвання клеткі? У чым сутнасць метаду вызначэння воднага патэнцыялу клеткі? Якіх велічынь дасягае астматычны патэнцыял клетак раслін розных экалагічных груп? Расліны якіх экалагічных груп і чаму больш устойлівыя да недахопу вільгаці? Якія знешнія фактары і як уплываюць на велічыню воднага патэнцыялу (сілы ўсмоктавання) клетак? Дзве суседнія клеткі маюць наступныя значэнні воднага патэнцыялу: першая – $(-0,7 \text{ МПа})$, другая – $(-1,2 \text{ МПа})$. Якая з гэтых клетак будзе аддаваць ваду, якая – усмоктаць? Клетка з астматычным патэнцыялам $\Psi_{\pi} = -0,8 \text{ МПа}$ знаходзіцца ў растворы з астматычным патэнцыялам $\Psi_{\pi} = -0,5 \text{ МПа}$. Вызначыць водны $\Psi_{\text{кл}}$ і гідрастатычны Ψ_{ρ} патэнцыялы клеткі пасля ўстанаўлення раўнавагі ў сістэме «клетка – раствор».

Лабараторная работа № 6 **ПАГЛЫНАННЕ ВАДЫ РАСЛІНАЙ**

Агульныя палажэнні. Паглыннанне вады – адзін з працэсаў воднага абмену расліны. У паглыннанні і транспартаванні вады прымаюць удзел два механізмы: прысмоктвальнае дзеянне транспірацыі, ці *верхні канцавы рухавік* воднага патоку, і актыўная ўсмоктвальная дзейнасць каранёў – *ніжні канцавы рухавік* воднага патоку.

Дзейнасць першага механізма абумоўлена наяўнасцю вялікага перападу воднага патэнцыялу (сілы ўсмоктвання) паміж лістом і атмасферай. Водны патэнцыял тканак ліста мяняецца ад $-0,1$ – $1,5 \text{ МПа}$ ў травяністых раслін да -3 МПа ў дрэвавых, а паветра – ад -1 – 3 МПа пры вільготнасці 99% да -91 МПа пры вільготнасці 50%. У выніку клеткі ліста аддаюць ваду ў атмасферу. Сіла ўсмоктвання гэтых клетак павышаецца, яны, у сваю чаргу, забіраюць ваду ў клетак, якія ляжаць больш глыбока, і г. д. Такім чынам, прысмоктвальная дзейнасць транспірацыі перадаецца да клетак каранёвых валаскоў, якія ўсмоктаюць ваду з глебы – *пасіўны механізм*, які не патрабуе затрат энергіі.

Дзейнасць каранёў – *актыўны механізм*, ён звязаны з затратамі метабалічнай энергіі і не залежыць ад транспірацыі. Актыўны механізм стварае ў праводзячых сасудах залішні гідрастатычны ціск (каранёвы ціск), які праяўляецца пры адсутнасці транспірацыі ў працэсах гутацыі і «плачу». Актыўнае паглыннанне і перамяшчэнне вады па жывых клетках караня ажыццяўляецца асматычнымі сіламі (лаб. работы № 4 і 5), на падтрыманне якіх расходуюцца энергія. Клеткі атрымліваюць энергію пры акісленні арганічных злучэнняў у працэсе дыхання. Фактары, якія зніжаюць інтэнсіўнасць дыхання (нізкія тэмпературы, недахоп кіслароду і інш.), адмоўна ўплываюць на паглыннанне вады каранямі. Адносная доля актыўнага паглыннання ў агульным паглыннанні вады неаднолькавая ў розных раслін і мяняецца ў залежнасці ад перыяду года, надвор'я, умоў росту.

Патаметрычны метада заключаецца ў вымярэнні з дапамогай капіляра мікрааб'ёму паглынутай вады. Пры выкананні гэтай работы неабходна вызначыць хуткасць паглыннання вады ў залежнасці ад фактараў, якія ўплываюць на транспірацыю і работу актыўнага механізма.

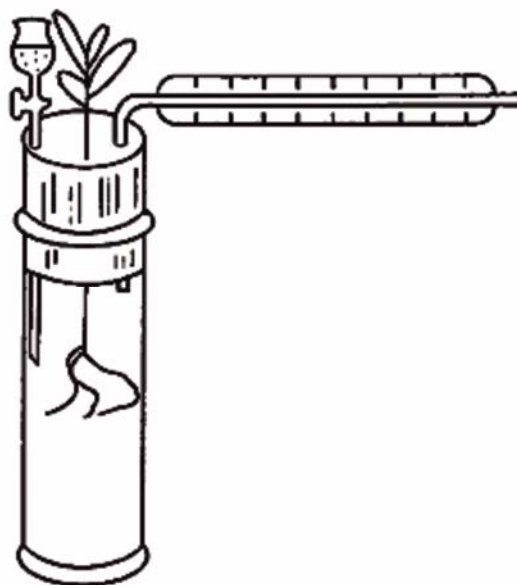
Ход работы. Заліць патаметр (мал. 5) да верху гатаванай вадой. Змясціць у разрэз корка доследную расліну і ўставіць у патаметр. Карані расліны павінны быць у вадзе. Герметызаваць пластылінам шчыліну і запоўніць вадой капіляр. Прасачыць за тым, каб у сасудзе не засталася ні аднаго пазырка паветра. Правярыць герметычнасць ўстаноўкі, нахіляючы патаметр трубкай уніз: пры гэтым меніск ў трубцы не павінен перамяшчацца. Для падтрымання пастаяннай тэмпературы змясціць патаметр у пасудзіну з вадой. Пасля ўсталявання аднолькавай тэмпературы вады ў патаметры і па-за ім пачынаць вымярэнні. З мэтай паскарэння выраўноўвання тэмператур патаметр неабходна запоўніць вадой, нагрэтай ці ахалоджанай да ўзроўню, патрэбнага па ўмовах доследу.

Пры вызначэнні вымярэнняў адзначыць зыходнае становішча меніска, а таксама яго зрушэнне за 3–5 хвіл (залежыць ад хуткасці паглыннання). Неабходна атрымаць не менш за тры вымярэнні, на аснове якіх разлічыць сярэдняе значэнне, а таксама хуткасць паглыннання вады (мілілітраў у гадзіну).

Умовы доследу змяняюцца ў залежнасці ад задач даследаванняў: вызначэнне ролі святла, тэмпературы і руху паветра.

Можна вызначыць частку актыўнага паглыннання вады ад агульнага паглыннання. Для гэтага спачатку разлічыць хуткасць паглыннання вады ўсёй раслінай, затым зрэзаць верхнюю частку і

вызначыць хуткасць паглынання толькі каранямі. Пасля аддзялення верхняй часткі пянёк прыкрыць каўпачком.



Мал. 5. Патометр

Могучь быць сфармуляваны таксама задачы іншага зместу.

Вынікі вымярэнняў запісаць у табліцу па ніжэйпрыведзенай форме:

Вары- янт до- следу	Становішча меніска				Сярэд- няе за 3 хвіл	Паглынута вады за 3 хвіл, мл	Сярэдняя хуткасць паглынання, мл/гадз	Актыўнае паглыннан- не ў % ад агульнага
	зыход- нае	праз хвіліны						
		3	6	9				

На аснове разлікаў зрабіць вывады пра залежнасць паглынання вады ад знешніх умоў. Растлумачыць механізм уплыву фактараў на працэс паглынання вады.

Абсталяванне і матэрыялы: патометр; вадзяная грэлка з тэрмастатам; асвятляльнік; вентылятар; зацямяняльны экран; лязо; шкляны каўпачок; раствор Кнопа; пластылін; гатаваная вада; расліна, вырашчаная ў водных культурах.

Кантрольныя пытанні. Роля і функцыі вады ў жыцці расліны. Якую колькасць вады змяшчаюць расліны? Якія працэсы ўключае водны абмен? Дзякуючы якім механізмам расліна паглынае ваду? Што ўяўляюць сабой верхні і ніжні рухавікі воднага патоку? Сутнасць пасіўнага і актыўнага паглынання вады. Як ствараецца

каранёвы ціск? Як даказаць наяўнасць актыўнага паглынання вады? Што такое водны патэнцыял, сіла ўсмоктвання? Якіх велічынь дасягае водны патэнцыял ліста і атмасферы? Як уплывае на паглынне вады святло, вецер, асматычны патэнцыял раствору? Сутнасць метаду вызначэння долі актыўнага паглынання ад агульнага.

Лабараторная работа № 7 ЗАЛЕЖНАСЦЬ ІНТЭНСІЎНАСЦІ ТРАНСПІРАЦЫІ АД ЗНЕШНІХ УМОЎ

Агульныя пытанні. Пад транспірацыяй разумеюць выпарванне вады органамі расліны, перш за ўсё лістамі. Для характарыстыкі гэтага працэсу выкарыстоўваецца паказчык *інтэнсіўнасці транспірацыі* – колькасць міліграмаў вады, выпаранай за адну гадзіну з выпаральнай паверхні ў адзін дэцыметр квадраты (мг/(дм² · гадз)).

На транспірацыю ўплываюць асаблівасці структурнай арганізацыі лістоў, а таксама знешнія фактары: тэмпература, вільготнасць паветра і глебы, святло, вецер і інш.

Ход работы. Два парасткі замацаваць з дапамогай ваты ў адтуліне коркаў, уставіць коркі з імі ў колбы на 150–200 мл, напоўненыя вадой, і герметызаваць стыкі пластылінам. Узважыць устаноўкі на электронных вагах. Колбы пры гэтым павінны быць сухімі.

Адну ўстаноўку пакінуць у звычайных умовах на лабараторным сталe, яна з'яўляецца кантрольнай. Другую, у залежнасці ад задання, размясціць:

- а) на адлегласці 1 м ад вентылятара;
- б) на адлегласці 1 м ад электраагравальніка;
- в) у цёмным памяшканні;
- г) у камеры з павышанай вільготнасцю паветра.

Адзначыць час пачатку доследу. Праз 20–30 хвіл паўторна ўзважыць устаноўкі. Па методыцы, выкладзенай у лаб. рабоце № 13, вызначыць плошчу лістоў. Разлічыць інтэнсіўнасць транспірацыі.

Вынікі запісаць у табліцу па наступнай форме:

Аб'ект даследавання	Умовы доследу	Маса ўстаноўкі, г		Працягласць доследу, хвіл	Плошча лістоў, дм ²	Інтэнсіўнасць транспірацыі, мг/(дм ² ·гадз)
		зыходная	пасля доследу			

Зрабіць вывады пра ўздзеянне даследуемых фактараў на транспірацыю. Даць неабходныя тлумачэнні. Параўнаць атрыманыя паказчыкі інтэнсіўнасці транспірацыі з літаратурнымі данымі і вызначыць, да якой групы – значна-, сярэдне- ці слабатранспіруючых адносіцца дадзеная расліна.

Абсталяванне і матэрыялы: колбы на 150–200 мл з коркамі (2 шт.); вагі электронныя; нажніцы; пластылін; папера; парасткі дрэвавых раслін.

Кантрольныя пытанні. Як расліна выпарвае ваду? Чым выклікана тое, што расліна выпарвае ваду? Чаму транспірацыя называецца «непазбежным злом»? Якая фізіялагічная роля транспірацыі? Што ёсць інтэнсіўнасць транспірацыі? Ад якіх унутраных фактараў залежыць інтэнсіўнасць транспірацыі? Якія знешнія фактары і як уплываюць на транспірацыю? Роля транспірацыі ў падтрыманні воднага балансу расліны.

Лабараторная работа № 8 **ПАКАЗЧЫКІ ВОДААБМЕНУ ПАРАСТКА ДРЭВАВАЙ** **РАСЛІНЫ (паводле В. П. Мальчэўскага)**

Агульныя палажэнні. Вывучаюцца асноўныя працэсы водаабмену: паглыннанне вады, рух яе па праводзячых тканках і транспірацыя. Паглыннанне вады парасткам ажыццяўляецца толькі за кошт прысмоктвальнага дзеяння транспірацыі, г. зн. работы верхняга канцавога рухавіка (гл. лаб. работу № 6).

Рух вады ў лісцевых пародах ажыццяўляецца па сасудах і трахеідах, у хваёвых – па трахеідах. У сувязі з рознай будовай гэтых элементаў хуткасць перамяшчэння вады ў хваёвых і лісцевых пародах розная. Прапускная здольнасць праводзячых элементаў характарызуецца *водаправоднасцю* (W) – колькасцю вады, якая прайшла праз адзінку плошчы папярочнага сячэння ксілемы за адзінку часу, г/(см²·сут).

З ліку паказчыкаў транспірацыі ў рабоце вызначаюцца інтэнсіўнасць і эканамічнасць транспірацыі. *Інтэнсіўнасць транспірацыі* (I) – гэта колькасць вады, выпаранай раслінай за адзінку часу з аднаго дэцыметра квадрата павярхні, мг/дм² · гадз. *Выпаральная павярхня* – павярхня транспіруючых органаў (лістоў, сцёблаў). *Эканамічнасць транспірацыі* (\mathcal{E}) – гэта колькасць транспіраванай за 1 гадз вады, выражаная ў працэнтах ад агульнай колькасці вады ў расліне, % /гадз.

Суадносіны паміж прыходам і расходам вады называюцца *водным балансам*. Водны баланс лічыцца адмоўным, калі расход перавышае прыход. У гэтым выпадку назіраецца *водны дэфіцыт*, які сведчыць пра дрэннае водазабеспячэнне.

Ход работы. Наліць у колбу ёмістасцю 250 мл прыблізна на 3/4 ваду, афарбаваную эзінам, і вызначыць яе масу на вагах з дакладнасцю да 0,01 г. Колба звонку павінна быць сухой.

Падрыхтаваць парастак хвої звычайнай, ачысціўшы яго ніжнюю частку на патрэбную даўжыню ад ігліцы. Змясціць парастак у адтуліну корка і заткнуць яго ватай. Абнавіць зрэз сцябла пад вадой вострым скальпелем – адрэзаць наўскос кавалак сцябла даўжынёй каля 5 см. Вытрымаць сцябло ў вадзе з паўхвіліны, затым хутка змясціць корак са сцяблом у колбу. Сцябло павінна быць апушчана ў ваду на 2–3 см. Пры абнаўленні зрэзу трэба сачыць, каб канец сцябла быў увільготнены на такую ж даўжыню (2–3 см). Гэтым зводзіцца да мінімуму памылка, звязаная з унясеннем у колбу дадатковай колькасці вады, якая змочвае сцябло. Герметызаваць стыкі пластылінам і ўзважыць устаноўку. Замацаваць этикетку з указаннем даты і часу пачатку доследу і змясціць устаноўку ў асветленым месцы.

Такі ж дослед правесці і з акальцаваным парасткам, у якога здымаецца кара на шырыню 5 мм. Кольца павінна знаходзіцца над вадой пад коркам.

Для выяўлення вільготнасці сцябла і ігліцы доследныя ўзоры змясціць у здробненым выглядзе ў загадзя ўзважаныя бюксы (па 3 бюксы для ігліцы і сцябла). Узважыць бюксы з узорами і паставіць у сушыльную шафу ў адкрытым выглядзе. Працягласць сушкі 10–12 гадз пры тэмпературы 105°C. Пасля заканчэння сушкі бюксы закрыць накрыўкамі, ахаладзіць і ўзважыць. Дакладнасць узважвання пры вызначэнні вільготнасці – 0,001 г.

Вынікі запісаць у табліцу па ніжэйпрыведзенай форме:

Вары- янт	Ну- мар бюкса	Маса пустога бюкса, г	Маса бюкса з наважкай, г		Маса сырой наважкі, г	Маса вады ў на- важцы, г	% віль- гаці
			сырой	сухой			
Ігліца							
Стволік							

Праз тры дні ўзважыць устаноўку і колбу з вадой. Асобна ўзважыць ігліцу і сцябло. Разрэзаць сцябло ўздоўж па асяродку. Вымераць мікраскопам МБС дыяметр асяродка (d) і сцябла без

кары (D). Вымярэнні праводзіць на тоўстым канцы сцябла. Зрабіць неабходныя разлікі.

Вынікі запісаць у табліцу па ніжэйпрыведзенай форме:

Паказчыкі	Значэнні паказчыкаў па варыянтах доследу	
	акальцованы парастак	неакальцованы парастак
Маса колбы з вадой, г: да доследу		
пасля доследу		
Маса ўстаноўкі, г: да доследу		
пасля доследу		
Паглынутая вада (M_1), г		
Транспіравана вада (M_2), г		
Маса, г: ігліцы		
сцябла		
Колькасць вады, г: у ігліцы		
у сцябле		
ва ўсім парастку (M_3)		
Плошча драўніны (S), см ²		
Інтэнсіўнасць транспірацыі (I), мг/дм ² ·гадз		
Эканамічнасць транспірацыі (Ξ), %/гадз		
Водаправоднасць сцябла (W), г/см ² ·сут		

Колькасць вады ў сцябле і ігліцы разлічыць, зыходзячы з іх масы і вільготнасці. Плошча драўніны на папярочным разрэзе разлічваецца па формуле

$$S = \pi/4(D^2 - d^2),$$

дзе D – дыяметр сцябла без кары, см; d – дыяметр асяродка, см.

Выпаральная паверхня ігліцы разлічваецца по формуле зыходзячы з таго, што 1 г сырой ігліцы мае паверхню 0,33 дм²:

$$P = 0,33m,$$

дзе m – маса сырой ігліцы парастка.

Інтэнсіўнасць транспірацыі:

$$I = 1000M_2 / Pt,$$

дзе t – працягласць доследу, гадз.

Эканамічнасць транспірацыі:

$$\mathcal{E} = 100M_2 / M_3t,$$

дзе t – працягласць доследу, гадз.

Водаправоднасць сцябла:

$$W = M_1 / St,$$

дзе t – працягласць доследу, сут.

На зрэзе сцябла па афарбоўцы выявіць тую яго частку (кара, драўніна, асяродак), па якой рухаецца транспірацыйны ток. Зрабіць малюнак. Разгледзець пад мікраскопам праводзячыя элементы ксілемы.

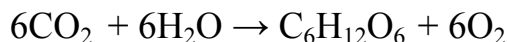
Зрабіць вывады пра механізм паглынання вады парасткам, шляхі яе перамяшчэння, стан воднага балансу.

Абсталяванне і матэрыялы: колба ёмістасцю 250 мл (2 шт.); корак з адтулінай (2 шт.); бюксы (6 шт.); вагі; сушыльная шафа; скальпель; секатар; крышталізатар з вадой; мікраскоп МБС; 0,0003%-ны раствор эзіну ў гатаванай вадзе; пластылін; парасткі хвой.

Кантрольныя пытанні. Растлумачыць паказчыкі: інтэнсіўнасць і эканамічнасць транспірацыі, водаправоднасць сцябла. Па якой частцы сцябла ідзе ўзыходны паток вады? Чаму пасля акальцоўвання ствала дрэва адмірае? Што рухаецца па ксілеме і флаэме расліны? Ці праводзіць што-небудзь асяродак сцябла? Ці можа падымацца вада па расліне без удзелу каранёў? Што забяспечвае рух вады па расліне без каранёў у доследзе? Што ёсць транспірацыя? Якія праводзячыя элементы ў ксілеме і флаэме, у ксілеме хваёвых і лісцевых раслін? У якіх раслін, хваёвых ці лісцевых, супраціўленне патоку вады большае і адпаведна хуткасць патоку меншая? Чаму? У якіх раслін ёсць трахеіды, а ў якіх сасуды? У якіх тканках расліны знаходзяцца гэтыя элементы, якая іх функцыя?

3. ФОТАСІНТЭЗ

Фотасінтэз – працэс утварэння зелёнымі раслінамі арганічных рэчываў з неарганічных (CO_2 і H_2O) за кошт паглынутай энергіі святла. Агульнае ўраўненне фотасінтэзу



Фотасінтэз ажыццяўляецца *аўтатрофнымі* арганізмамі, да якіх адносяцца і расліны. Гэты працэс уключае мноства светлавых і цёмных ферментатыўных рэакцый, якія адбываюцца ў хларапластах. Атрыманыя ў лістах *асіміляты* транспартуюцца ў іншыя органы расліны, дзе і спажываюцца ў працэсах метабалізму і росту. Прадукты фотасінтэзу з'яўляюцца разам з элементамі мінеральнага жыўлення крыніцамі для сінтэзу ўсіх арганічных злучэнняў і складаюць каля 95% іх масы.

Лабараторная работа № 9 КОЛЬКАСНАЕ ЎТРЫМАННЕ ПІГМЕНТАЎ У ЛІСТАХ

Агульныя палажэнні. Да асноўных груп пігментаў расліннага паходжання, якія прымаюць непасрэдны ўдзел у працэсе фотасінтэзу, належаць *хларафілы* (складаныя эфіры дыкарбонавай кіслаты) і *караціноіды* (тлушчарастваральныя пігменты жоўтага, аранжавага і чырвонага колеру, вытворныя ізапрэну).

Зялёныя пігменты прадстаўлены хларафіламі *a* і *b*.

Караціноіды, у сваю чаргу, прадстаўлены карацінамі (α - і β -караціны з агульнай формулай $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$) і ксантафіламі (лютэін, віялаксанцін, неаксанцін і іншыя з агульнай формулай $\text{C}_{40}\text{H}_{54}(\text{OH})_2$).

Пігменты лакалізуюцца на мембранах тылакоідаў хларапластаў. Функцыяй пігментаў у працэсе фотасінтэзу з'яўляецца паглынне квантаў светлавой энергіі.

Колькасць хларафілу ў лісці вагаецца ад 0,3 да 1,3% сухой масы лісця. Хларафілу *a* прыкладна ў 3 разы больш, чым хларафілу *b*. *Колькасць хларафілу* – важны фактар, які ўплывае на работу фотасінтэтычнага апарату і ў канчатковым выніку – на прадукцыйнасць расліны. Канцэнтрацыя караціноідаў у 3–5 разоў меншая за канцэнтрацыю хларафілаў.

Колькасць пігментаў у лісці і іх суадносіны – велічыні непастаянныя і залежаць ад біялагічных асаблівасцей віду, узросту расліны, экалагічных умоў (водазабеспячэння, мінеральнага жыўлення і інш.).

Хларапласты лісця ценетрывалых раслін утрымліваюць хларафілу больш за святлалюбныя, дзякуючы чаму ценетрывалыя расліны эфектыўней паглынаюць святло. У іх лістах утрымліваецца большая колькасць хларафілу b , які лепш паглынае караткахвалевыя прамяні. У выніку суадносіны хл. a / хл. b у гэтых раслін меншыя. Калі ў святлалюбных раслін суадносіны хл. a / хл. b у сярэднім складаюць 3,5–3,9, то ў ценетрывалых – прыкладна 2,5. Ценетрывалыя расліны ўтрымліваюць таксама адносна шмат караціноідаў.

Для колькаснага вызначэння пігментаў праводзіцца іх экстракцыя палярным арганічным растваральнікам (спіртам ці ацэтанам). Бензін, петралеіны эфір і іншыя непалярныя растваральнікі не парушаюць сувязі палярных пігментаў з бялкамі, таму экстрагуюць у нармальных умовах толькі карацін, частку ксантафілаў і невялікую колькасць (1–5%) хларафілу. Для поўнай экстракцыі пігментаў да непалярных растваральнікаў неабходна прымешваць невялікую колькасць палярнага растваральніка (напрыклад 2–3% этанолу ў петралеіным эфіры).

Потым пры дапамозе спектрафатометра вызначаецца канцэнтрацыя пігментаў у атрыманым раствору. На падставе гэтай канцэнтрацыі разлічваецца колькасць пігментаў на адзінку масы ліста.

Сутнасць спектрафотаметрычнага метаду аналізу зводзіцца да вызначэння аптычнай шчыльнасці (D) агульнай выцяжкі пігментаў пры даўжынях хваль, якія адпавядаюць максімумам паглынання пігментаў у дадзеным растваральніку: для хларафілаў у 100%-ным ацэтане – 662 і 644 нм, у 96%-ным этаноле – 665 і 649 нм; для караціноідаў – 440 нм незалежна ад растваральніка.

Канцэнтрацыя пігментаў у раствору разлічваецца па наступных формулах:

1. Для 100%-нага ацэтану (паводле Хольма – Ветштэйна):

$$\begin{aligned} C_a(\text{мг/л}) &= 9,784D_{662} - 0,990D_{644}; \\ C_b(\text{мг/л}) &= 21,426D_{664} - 4,650D_{662}; \\ C_{(a+b)}(\text{мг/л}) &= 5,134D_{662} + 20,436D_{644}; \\ C_{\text{карацін}}(\text{мг/л}) &= 4,695D_{440} - 0,268C_{(a+b)}. \end{aligned}$$

2. Для 80%-нага ацэтану (паводле Ліхтэнталера і інш., 1982):

$$\begin{aligned} C_a(\text{мг/л}) &= 12,21D_{663} - 2,81D_{646}; \\ C_b(\text{мг/л}) &= 20,13D_{666} - 5,03D_{663}; \\ C_{\text{карацін}}(\text{мг/л}) &= (1000D_{470} - 3,27C_a - 100C_b) / 229. \end{aligned}$$

3. Для 96%-нага этанолу (паводле Вінтэрманса і дэ Монса, 1965):

$$\begin{aligned}C_a(\text{мг/л}) &= 13,70D_{665} - 5,76D_{649}; \\C_b(\text{мг/л}) &= 25,80D_{649} - 7,60D_{665}; \\C_{a+b}(\text{мг/л}) &= 6,10D_{665} + 20,04D_{649}.\end{aligned}$$

Канцэнтрацыя караціноідаў у спіртавым раствору разлічваецца па прыведзенай вышэй формуле.

На падставе канцэнтрацыі пігментаў у 1 л доследнага раствора разлічваецца іх колькасць у 1 г тканкі ліста па формуле

$$A = CV/1000P,$$

дзе A – колькасць пігментаў ў раслінным матэрыяле (мг/г сырой масы); C – канцэнтрацыя пігментаў (мг/л); V – аб’ём выцяжкі (мл); P – наважка расліннай тканкі (г).

Мэтай работы з’яўляецца асваенне методык атрымання экстракту пігментаў і вызначэння аптычнай шчыльнасці раствору на спектрафатометры, а таксама разлік колькасці пігментаў у раствору і лісці. Работа выконваецца ў дзвюх паўторнасцях: з лістамі святлалюбных і ценетрывалых раслін.

Ход работы. Узважыць на тарзійных вагах 50–70 мг тканкі ліста (ігліцы). У ліста выразаць буйныя жылкі, у ігліцы абрэзаць ніжні і верхні кончыкі. Пашкоджанае лісце не выкарыстоўваць.

Наважку перанесці ў ступку з фарфору. Дадаць крыху вуглякіслага кальцыю для нейтралізацыі арганічных кіслот (яны рэагуюць з хларафілам з утварэннем феафіцыну), прамытага кварцавага пяску і каля 0,5 мл растваральніку. Неабходную для работы колькасць растваральніку (15 мл) адмераць папярэдне. Расцерці наважку да аднароднай масы песцікам. Прыліць да расцёртай масы каля 5 мл растваральніку і з дапамогай шкляной палачкі змыць сценкі ступкі. Змазаць з вонкавага боку носік ступкі вазелінам, хутка перакуліць ступку і перанесці экстракт і асадок на фільтр Шота № 4, які ўстаўлены з дапамогай корка ў колбу Бунзена. Кроплі раствору зняць з носіка ступкі шкляной палачкай. Некалькі разоў змыць песцік і ступку такім чынам, каб не было страты ніводнага кавалачка тканкі ці кроплі раствору.

Прафільтраваць выцяжку пры дапамозе помпы. Прамыць фільтр некалькі разоў маленькімі порцыямі растваральніку. Перанесці фільтрат у мерны цыліндр ёмістасцю 15 мл. Двойчы абмыць колбу Бунзена і перанесці вадкасць у гэты ж мерны цыліндр. Растваральнікам давесці ўзровень раствору ў цыліндры

да 15 мл, перамяшаць і выліць у колбу. Заткнуць колбу коркам. Захоўваць выцяжку пігментаў у цёмным месцы.

Вызначыць на спектрафатометры аптычную шчыльнасць раствору пры тых даўжынях хваль, якія адпавядаюць выкарыстанаму растваральніку.

Вынікі вымярэння занесці ў табліцу па наступнай форме:

Аб'ект даследавання	Наважка, мг	Аб'ём выцяжкі, мл	Аптычная шчыльнасць пры даўжыні хвалі, нм		

Разлічыць па адпаведных формулах канцэнтрацыю пігментаў у міліграмах на літр раствору, міліграмах на грам сырой наважкі, а таксама іх суадносіны.

Атрыманыя вынікі запісаць па наступнай форме:

Аб'ект даследавання	Змяшчэнне пігментаў, мг/л раствору			Змяшчэнне пігментаў у сырым лісці, мг/г			Суадносіны пігментаў	
	хл. <i>a</i>	хл. <i>b</i>	караціноіды	хл. <i>a</i>	хл. <i>b</i>	караціноіды	<i>a</i> / <i>b</i>	$\Sigma(a + b) /$ караціноіды

Прааналізаваць вынікі і зрабіць высновкі пра суадносіны пігментаў у вивучаемых аб'ектах. Параўнаць атрыманыя вынікі па варыянтах доследу, выказаць меркаванні адносна неаднолькавага ўтрымання пігментаў у розных лістах (раслінах). Разлічыць працэнтнае ўтрыманне пігментаў.

Матэрыялы і абсталяванне: ступка фарфоравая; песцік; лейка Бюхнера; нажніцы; помпа; вагі тарзійныя; колба Бунзена; фільтр Шота № 4; шкляная палачка; колба ёмістасцю 25 мл з коркам; мерны цыліндр ёмістасцю 25 мл; спектрафатометр; ацэтон 100%-ны альбо спірт этылавы 96%-ны; CaCO_3 ; кварцавы пясок; вазелін; лісты раслін.

Кантрольныя пытанні. Якія пігменты ўтрымліваюцца ў лістах раслін? У якіх структурах клеткі ўтрымліваюцца зялёныя і жоўтыя пігменты? У якім фізіялагічным працэсе ўдзельнічаюць пігменты? Роля зялёных і жоўтых пігментаў у працэсе фотасінтэзу. Дзе ў хларапластах лакалізуюцца пігменты? Сутнасць метаду вызначэння колькасці пігментаў. Якіх пігментаў і ў колькі разоў больш у хларапластах: хларафілу *a* ці *b*, зялёных ці жоўтых, карацінаў ці ксантафілаў? Як адрозніваюцца па ўтрыманні пігментаў святлалюбныя і ценетрывалыя расліны? Дайце азначэнне фотасінтэзу, напішыце яго ўраўненне.

Лабараторная работа № 10 ХІМІЧНЫЯ ЎЛАСЦІВАСЦІ ПІГМЕНТАЎ

Агульныя палажэнні. Хімічныя ўласцівасці пігментаў вызначаюцца будовай іх малекул. Хларафіл па хімічнай прыродзе ўяўляе сабой *складаны эфір* хларафілінавай кіслаты і двух спіртоў: фітолу і метанолу. Асновай структурнай формулы хларафілу з'яўляецца парфірынавае ядро, утворанае чатырма пірольнымі кольцамі. У цэнтры ядра знаходзіцца атам магнію, злучаны дзвюма асноўнымі і дзвюма дадатковымі сувязямі з азотам рэшткаў піролу. Хларафіл *b* адрозніваецца ад хларафілу *a* тым, што каля другога яго пірольнага кольца знаходзіцца група $-\text{CHO}$ замест $-\text{CH}_3$. Парфірынавае ядро мае палярныя групы, якія вызначаюць яго гідрафільнасць. Фітольныя рэшткі – гэта гідрафобная частка малекулы.

Караціны – ненасычаныя вуглеводароды, вытворныя ізапрэну. Агульная формула β -караціну – $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$. **Ксантафілы** – кіслародзмяшчальныя вытворныя карацінаў. Формула лютэіну – $\text{C}_{40}\text{H}_{54}(\text{OH})_2$. Караціны – непалярныя злучэнні, ксантафілы змяшчаюць палярныя групы $-\text{OH}$.

У цэлым пігменты з'яўляюцца ліпафільнымі злучэннямі і добра раствараюцца ў палярных (этылавы спірт, ацэтон) і непалярных (петралеіны эфір, бензін) растваральніках. Ступень палярнасці растваральніку вызначаецца дыпольным момантам яго малекулы ў адзінках Дэбая: ацэтон – 2,71; метанол – 1,64; этанол – 1,63; этилавы эфір – 1,14; петралеіны эфір – 0. Растваральнасць розных пігментаў у адным і тым жа растваральніку неаднолькавая, што вызначаецца палярнасцю іх малекул. Такая ўласцівасць ляжыць у аснове метадаў раздзялення сумесі пігментаў на розныя кампаненты.

Хларафіл, які з'яўляецца складаным эфірам, рэагуе з кіслотамі і шчолачамі.

Пры выкананні гэтай работы неабходна вывучыць асноўныя хімічныя ўласцівасці пігментаў і засвоіць методыку іх храматаграфічнага раздзялення.

Ход работы. Наважку лісця масай каля 2 г расцерці ў сухой ступцы з 2–3 г бязводнага Na_2SO_4 да сухога парашку. Парашок перанесці на фільтр і заліць 5 мл этилавага спірту. Суспензію адфільтраваць і некалькі разоў прамыць асадак порцыямі растваральніку. Агульны аб'ём экстракту давесці да 15 мл. (Падрабязна методыка атрымання экстракту пігментаў прыведзена ў лаб. рабоце № 9).

Прыгатаваць спіртаацэтонавы экстракт пігментаў у суадносінах 3 : 1. Для гэтага адліць у мерны цыліндр 3 мл спіртавога экстракту і дадаць 1 мл ацэтану. Перанесці сумесь у сухую колбу. Спіртаацэтонавы экстракт выкарыстоўваць у доследзе 1, рэшткі выцяжкі – у доследах 2–4.

Пры атрыманні раствораў неабходна выкарыстоўваць сухі посуд, колбу Бунзена і фільтр Шота. Пасля заканчэння работы фільтр і колбу вадой не прамываць.

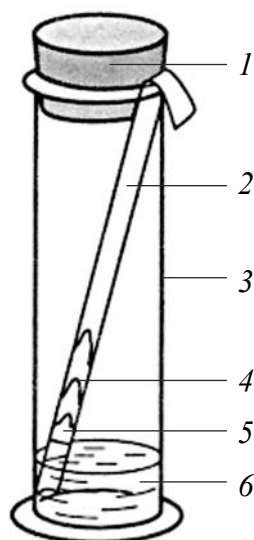
Дослед 1. Раздзяленне пігментаў метадам храматаграфіі на паперы.

Храматаграфія – гэта метад раздзялення сумесі на асобныя кампаненты, заснаваны на рознай здольнасці гэтых кампанентаў да адсорбцыі. Прынцыпы храматаграфіі ўпершыню былі распрацаваны ў пачатку XX ст. рускім фізіёлагам Цветам М. С. У цяперашні час храматаграфія атрымала вельмі шырокае распаўсюджанне.

М. С. Цвет прапускаў выцяжку пігментаў праз слой адсарбенту (цукровую пудру) – рэчыва, здольнага ўтрымліваць на сваёй паверхні малекулы іншых рэчываў. Адсарбавальныя ўласцівасці маюць таксама вуглякіслы кальцый, вокіс магнію, вокіс кальцыю і інш. Пігменты, якія маюць неаднолькавую растваральнасць і розную ступень адсорбцыі, размяшчаюцца на розных узроўнях у слоі адсарбенту. Чым большая растваральнасць пігменту і меншая роднасць з адсарбентам, тым далей ён знаходзіцца ад месца старту.

Папяровая храматаграфія – гэта разнастайнасць адсарбцыйнай храматаграфіі (мал. 6). Для раздзялення пігментаў гэтым спосабам неабходна выразаць ліст храматаграфічнай паперы 3×17 см. На адным канцы ліста на адлегласці 2,5 см ад краю правесці алоўкам тонкую лінію. Заціснуць гэты канец паперы паміж дзвюма пласцінкамі аргшкла такім чынам, каб лінія алоўка знаходзілася на адлегласці 0,5–1,0 см ад краю пласціны. Нанесці ўздоўж лініі ў некалькі прыёмаў мікрапіпеткай з адцягнутым носікам каля 0,5 мл спіртаацэтонавага экстракту пігментаў. Перад нанясеннем чарговай дозы пігментаў паперу падсушваць у цёку паветра. Зона пігментаў павінна быць па шырыні не больш за 0,5 см.

Пасля нанясення стартвай лініі прымацаваць паперу за процілеглы канец да дужкі корка храматаграфічнай камеры і ўставіць яе ў камеру такім чынам, каб стартвая лінія пігментаў была вышэй за ўзровень вадкасці. Захапіць камеру чорнай паперай.



Мал. 6. Устаноўка для хроматаграфіі пігментаў:
 1 – корак; 2 – хроматаграфічная папера;
 3 – хроматаграфічная камера; 4 – зоны пігментаў;
 5 – лінія старту; 6 – растваральнік

Хроматаграфічная камера папярэдне, за 15 хвіл да пачатку до-
 следу, запаўняецца сумессю бензіну, ацэтона і петралеянага эфіру
 ў суадносінах 10 : 10 : 3 і ўтрымліваецца ў закрытым выглядзе для
 насычэння атмасферы парамі растваральніка. Слой растваральніка
 ў камеры не павінен перавышаць 1 см.

Праз 20–30 хвіл хроматаграму дастаць і падсушыць. Абвесці
 зоны пігментаў алоўкам. Пігменты размяшчаюцца ў наступным
 парадку (пачынаючы ад лініі старту): хларафіл *b* – жаўтавата-зя-
 лёнага колеру, хларафіл *a* – сіне-зялёнага колеру, віялаксанцін і
 лютэін – залаціста-жоўтага колеру, карацін – жоўта-аранжавага
 колеру.

Вымераць адлегласць ад лініі старту да сярэдзіны плямы
 кожнага пігменту (l) і да мяжы распаўсюджвання растваральніка
 (L). Разлічыць каэфіцыенты размеркавання пігментаў:

$$R_i = l / L.$$

Прааналізаваць атрыманыя каэфіцыенты і зрабіць вывад пра
 адсарбуемасць пігментаў на паперы і ступень іх роднасці з раства-
 ральнікам. Растлумачыць, якімі асаблівасцямі хімічнай будовы ма-
 лекул пігментаў абумоўленыя гэтыя ўласцівасці. Візуальна аца-
 ніць па плошчы плямы адносную колькасць кожнага пігменту і
 размясціць іх у рад у парадку змяншэння. Замалюваць хроматагра-
 му і зрабіць абазначэнні.

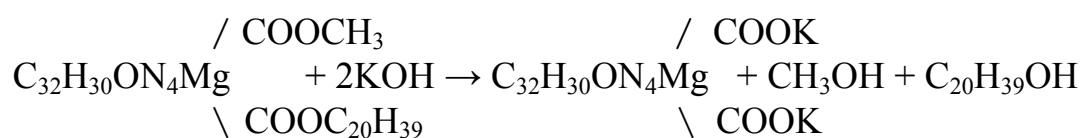
Дослед 2. Раздзяленне пігментаў паводле Краўса.

Наліць у прабірку каля 3 мл спіртавога раствору пігментаў і асцярожна дадаць прыблізна 5,0 мл бензіну. Заткнуць прабірку і моцна страсянуць. Па меры расслаення эмульсіі ў верхнім бензінавым слоі застануцца хларафілы, якія лепш раствараюцца ў бензіне дзякуючы ліпафільным уласцівасцям фітолу, і карацін, які не мае ў малекуле палярных груп. Гэты слой афарбуецца ў зялёны колер, маскіруючы жоўты колер караціну. Ніжні спіртавы слой афарбуецца ў залаціста-жоўты колер дзякуючы прысутнасці ксантафілу. Пры наяўнасці ў малекуле палярных груп –ОН ксантафіл лепш раствараецца ў спірце.

Калі раздзяленне атрымалася невыразным, дабаўляць па кроплях ваду, устрэсваючы раствор пасля кожнай з іх. Вада разбаўляе спірт і абумоўлівае яго несумяшчальнасць з бензінам. Пры вялікай колькасці вады ніжні слой мутнее, што ўстараняецца дабаўленнем спірту. Адзначыць афарбоўку верхняга і ніжняга слаёў, зрабіць малюнак з абазначэннямі, растлумачыць прычыны размеркавання пігментаў паміж спіртам і бензінам.

Дослед 3. Амыленне хларафілу шчолаччу і аддзяленне караціноідаў.

Пры дзеянні на хларафіл шчолаччу эфірныя сувязі расшчапляюцца і ўтвараюцца соль хларафілінавай кіслаты і спірты метанол і фітол:



Соль хларафілінавай кіслаты афарбавана ў зялёны колер, паколькі парфірынавая структура не парушана. Аднак, у адрозненне ад хларафілу, які мае вялікія непалярныя рэшткі фітолу, яна не раствараецца ў бензіне.

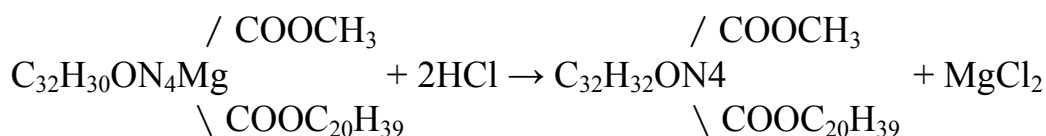
Да 3–4 мл спіртавой выцяжкі пігментаў прыліць 1 мл 20%-нага спіртавога раствору КОН. Асцярожна нагрэць да ўскіпання на вадзяной грэлцы. Пасля ахаладжэння дадаць у прабірку роўны папярэдняму аб'ём бензіну і 2–3 мл вады. Страсянуць і даць адстаяцца. У верхні, бензінавы слой прайдуць жоўтыя пігменты, у ніжні, водна-спіртавы – прадукты амылення хларафілу.

Зрабіць малюнак з тлумачэннямі. Паказаць, якія рэчывы раствараны ў спірце, якія – ў бензіне. Растлумачыць прычыну пераходу зялёнага пігменту ў ніжні слой, а ксантафілу – у верхні.

Зрабіць вывад пра тое, якая частка малекулы хларафілу (парфірынавае ядро ці фітол) адказная за зялёную афарбоўку. Зліць верхні слой піпеткай у асобную прабірку для выкарыстання раствору ў лаб. рабоце № 11 пры вивучэнні спектра паглынання. Напісаць ураўненне рэакцыі.

Дослед 4. Атрыманне феафіціну і аднаўленне металаарганічнай сувязі.

У выніку рэакцыі хларафілу з саянай кіслатой утвараецца феафіцін бурай афарбоўкі. Ён адрозніваецца ад хларафілу адсутнасцю атама магнію, які замяшчаецца вадародам:



Калі на феафіцін падзейнічаць солямі медзі, цынку ці ртуці, то ў парфірынавае ядро зноў уваходзіць метал. Аднаўленне металаарганічнай сувязі суправаджаецца з'яўленнем зялёнай афарбоўкі.

У прабірку наліць 2–3 мл спіртавой выцяжкі пігментаў і дадаць 1–2 кроплі 10%-най HCl. Страсянуць, адзначыць змяненне афарбоўкі. Да пабурэлай выцяжкі дадаць некалькі крышталікаў воцатнакіслага цынку ці медзі і нагрэць на вадзяной грэлцы.

Зрабіць малюнак. Растлумачыць прычыну змянення афарбоўкі ў першым і другім выпадках. Адзначыць, з якой асаблівасцю будовы парфірынавага ядра і якімі хімічнымі сувязямі звязана зялёная афарбоўка хларафілу. Паказаць, якія прамяні, у параўнанні з хларафілам (гл. лаб. работу № 11), не паглынаюцца феафіцінам, што і вызначае яго афарбоўку. Напісаць ураўненне рэакцыі атрымання феафіціну і аднаўлення металаарганічнай сувязі.

Абсталяванне і матэрыялы: храматаграфічная камера; нажніцы; піпетка з адцягнутым носікам; алоўкі (просты і каляровыя); вентылятар; прабіркі (5 шт.) у штатыве; піпеткі (3 шт.); вадзяная грэлка; ступка з песцікам; колба Бунзена; фільтр Шота; помпа, вагі тэхнічныя; колбы ёмістасцю 25 мл (2 шт.); мерны цыліндр на 25 мл і на 10 мл (2 шт.); пласцінкі з аргшкла (2 шт.); храматаграфічная папера; спірт этылавы; Na₂SO₄ бязводны; ацэтон; петралейны эфір; бензін; 20%-ны раствор КОН; 10%-ны раствор HCl; воцатнакіслы цынк ці медзь.

Кантрольныя пытанні. Якая хімічная прырода хларафілу і караціноідаў? Напішыце формулы зялёных і жоўтых пігментаў. Як адбываецца раздзяленне пігментаў паводле Краўса, паводле

М. С. Цвета? Сутнасць метаду храматаграфіі? Што азначае каэфіцыент размеркавання? Чаму каэфіцыенты размеркавання зялёных пігментаў меншыя за каэфіцыенты жоўтых? У якіх пігментаў і чаму R_i большы: у хл. a ці хл. b , у караціне ці ксантафіле? Як з дапамогай рэакцый амылення і ўтварэння феафіціну даказаць, з якой часткай малекулы хларафілу звязана яго зялёная афарбоўка? Дайце апісанне будовы парфірынавага ядра хларафілу. Якая роля пігментаў у працэсе фотасінтэзу?

Лабараторная работа № 11 АПТЫЧНЫЯ ЎЛАСЦІВАСЦІ ПІГМЕНТАЎ

Агульныя палажэнні. Аптычныя ўласцівасці абумоўлены здольнасцю пігментаў паглынаць энергію святла. Святло паглынаецца квантамі. За адзін прыём малекула паглынае толькі адзін квант. Энергія квантаў залежыць ад даўжыні хвалі λ і частаты ν :

$$E = h\nu = hc / \lambda.$$

Якія па энергаёмістасці кванты, ці, інакш, якой даўжыні хвалі святло паглынаецца, залежыць ад хімічнай структуры рэчыва. Гэта значыць, энергія кванта, даўжыня хвалі і частата паглынутага святла з'яўляюцца характэрнымі ўласцівасцямі пігментаў.

Пігменты па дадзенай прыкмеце адрозніваюцца паміж сабой, што адбываецца на іх спектрах паглынання. *Спектр паглынання* ёсць сукупнасць паглынаемых рэчывам прамянёў святла. Ён можа быць паказаны ў выглядзе графіка, які адлюстроўвае залежнасць велічыні паглынання святла (аптычнай шчыльнасці раствору пігментаў) ад даўжыні хвалі. Пігменты хларапластаў паглынаюць энергію бачных прамянёў святла. Вобласць выпраменьвання, у якой адбываецца паглынання, называецца *фотасінтэтычна актыўнай радыяцыяй (ФАР)*. Хларафілы маюць два максімумы паглынання, караціноіды – адзін. Спектр паглынання пігментаў паказвае, якія прамяні спектра выкарыстоўваюцца для фотасінтэзу.

Пры паглыннанні малекулай кванта святла адзін з π -электронаў пераходзіць на больш высокі энергетычны ўзровень, а малекула – у электронна-ўзбуджаны стан. Калі паглынаецца квант чырвонага святла, малекула набывае стан з энергіяй 1,7 эВ (першы сінглетны ўзровень), калі ж квант сіняга святла – стан з энергіяй 2,9 эВ (другі сінглетны ўзровень). У апошнім выпадку малекула губляе частку энергіі ў выглядзе цяпла і аказваецца на ніжнім вагальным падуз-

роўні сінглетнага ўзроўню (на першым сінглетным ўзроўні). Пры канчатковым вяртанні малекулы ў асноўны стан (электрона ў зыходнае становішча) выдзяляецца энергія, якая можа выкарыстоўвацца на ажыццяўленне фотахімічных працэсаў фотасінтэзу, на ўзбуджанне іншых малекул пігменту альбо выпраменьвацца ў выглядзе цяпла ці святла (флюарэсцэнцыя).

Флюарэсцэнцыя – гэта выпраменьванне светлавой энергіі пры пераходзе ўзбуджанай святлом малекулы з першага сінглетнага ўзроўню ў асноўны, няўзбуджаны стан. Яна не залежыць ад энергіі квантаў узбуджальнага святла. Хларафіл флуарэсцыруе ў даўгахвалёвай частцы спектра, караціноіды гэтай здольнасці не маюць.

Мэтай дадзенай работы з’яўляецца вызначэнне спектраў паглынання пігментаў і выяўленне флюарэсцэнцыі хларафілу ў растворы.

Ход работы. У рабоце выкарыстаць атрыманыя на папярэдніх занятках раствор сумесі хларафілаў і караціноідаў (зялёнага колеру) і раствор караціну і ксантафілаў (жоўтага колеру) (лаб. работы № 9 і 10).

Дослед 1. Вызначэнне спектра паглынання пігментаў.

Вызначыць на спектрафатометры аптычныя шчыльнасці (D) спачатку першага, потым другога раствору пры зададзеных у ніжэйпрыведзенай табліцы значэннях даўжынь хвалі (λ). Растворы пры неабходнасці, параіўшыся з выкладчыкам, разбавіць адпаведнымі растваральнікамі.

Вынікі вымярэння запісаць у табліцу па наступнай форме:

Дослед-ны раствор	Аптычная шчыльнасць пры даўжыні хвалі, нм																		
	380	400	420	430	440	450	470	490	520	540	570	590	630	650	660	670	680	700	710
Хларафі-лаў і кара-ціноідаў																			
Караціну і ксанта-філаў									*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Заўвага. Аптычная шчыльнасць раствору караціноідаў у інтэрвале ад 590 да 710 нм не вызначаецца ў сувязі з тым, што жоўтыя пігменты гэтыя прамяні не паглынаюць.

Намаляваць спектр паглынання. Для гэтага пабудаваць графік залежнасці аптычнай шчыльнасці ад даўжыні хвалі святла. На восі

абсцыс адкласці ў маштабе даўжыні хваляў і адзначыць адпаведныя ім колеры спектра, кіруючыся пры гэтым наступнымі данымі: фіялетавыя прамяні – 390–430 нм, сінія – 430–490, зялёныя – 490–570, жоўтыя – 570–590, аранжавыя – 590–630, чырвоныя – 630–770. Афарбаваць участкі спектра каляровымі алоўкамі.

Зрабіць вывады пра тое, якія прамяні спектра паглынаюцца зялёнымі і жоўтымі пігментамі, а таксама асобна караціноідамі. Даведацца па падручніку пра спектр паглынання зялёных пігментаў і намаляваць на тым жа графіку перарывістай лініяй крывую паглынання святла хларафіламі. Выказаць меркаванне адносна залежнасці хуткасці фотасінтэзу ад даўжыні хвалі святла (пра спектр дзеяння фотасінтэзу).

Дослед 2. Флюарэсцэнцыя хларафілу.

Паставіць прабірку ці колбу з растворам сумесі зялёных і жоўтых пігментаў перад крыніцай святла і разгледзець выцяжку ў святле, якое праходзіць, адзначыць яе зялёную афарбоўку. Потым змясціць прабірку з растворам сумесі пігментаў у камеру з афарбаванымі ў чорны колер сценамі такім чынам, каб крыніца святла знаходзілася збоку, і разгледзець выцяжку ў адлюстраваным белым і сінім святле. Адзначаюць чырвоную флюарэсцэнцыю выцяжкі. У інтэнсіўным святле, якое праходзіць, флюарэсцэнцыя не бачная, паколькі гэта святло маскіруе яе. Намаляваць схему доследу і зафарбаваць малюнку ў адпаведны колер (гл. мал. 7).

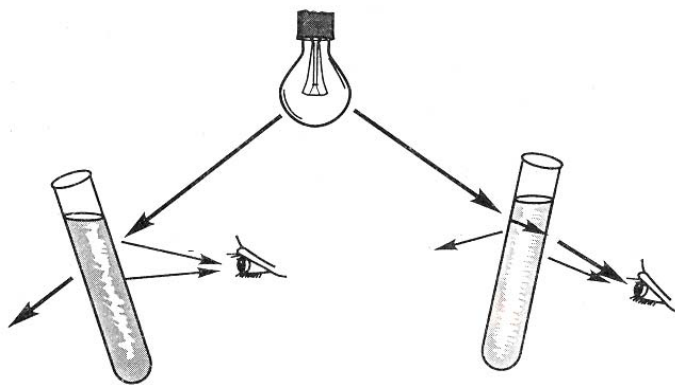


Рис. 7. Назіранне флюарэсцэнцыі хларафілу

Растлумачыць прычыны даўгахвалевай флюарэсцэнцыі хларафілаў пры асвятленні выцяжкі рознымі прамянямі спектра.

Абсталяванне і матэрыялы: спектрафатометр; камера з крыніцамі белага і сіняга святла; раствор сумесі зялёных і жоўтых пігментаў; выцяжка караціноідаў; мерны цыліндр; прабірка.

Кантрольныя пытанні. Што такое спектр выпраменьвання і спектр паглынання? Якія спектры паглынання ў хларафілаў, жоўтых пігментаў, сумесі пігментаў? Навошта ведаць спектры паглынання пігментаў? Якія сувязі ў малекулах хларафілаў і караціноідаў адказныя за паглынання сіняга святла? Намалюйце крывую залежнасці інтэнсіўнасці фотасінтэзу ад даўжыні хвалі святла (спектр дзеяння фотасінтэзу). Што ёсць флюарэсцэнцыя? Фізічная сутнасць гэтай з'явы. Якім святлом флюарэсцыруе хларафіл у белым і сінім святле, чаму? Што такое аптычная шчыльнасць раствору і як яна вымяраецца?

Лабараторная работа № 12

ФОТАСЕНСІБІЛІЗУЮЧАЕ ДЗЕЯННЕ ХЛАРАФІЛУ

Агульныя палажэнні. У светлавой фазе фотасінтэзу з удзелам хларафілу адбываецца фотаакісленне вады да малекулярнага кіслароду: $\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}^+ + 2e^- + \frac{1}{2} \text{O}_2$. Вызваленныя пры гэтым электроны выкарыстоўваюцца для аднаўлення НАДФ⁺ да НАДФН₂. У пераносе электронаў вады на НАДФ⁺ удзельнічаюць дзве фотасістэмы. Кожная фотасістэма ўключае светазбіральны комплекс пігментаў, рэакцыйны цэнтр і акцэптар электронаў. Фотаакісленне вады і выдзяленне кіслароду адбываецца ў ходзе рэакцый, якія адбываюцца ў фотасістэме II, тады як НАДФ⁺ аднаўляецца ў фотасістэме I. Электроны перадаюцца ад фотасістэмы II да фотасістэмы I па ланцугу пераносчыкаў электронаў. Энергія электронаў, якія перадаюцца па электрон-транспартнаму ланцугу, выкарыстоўваецца для ўтварэння АТФ з АДФ і неарганічнага фасфату.

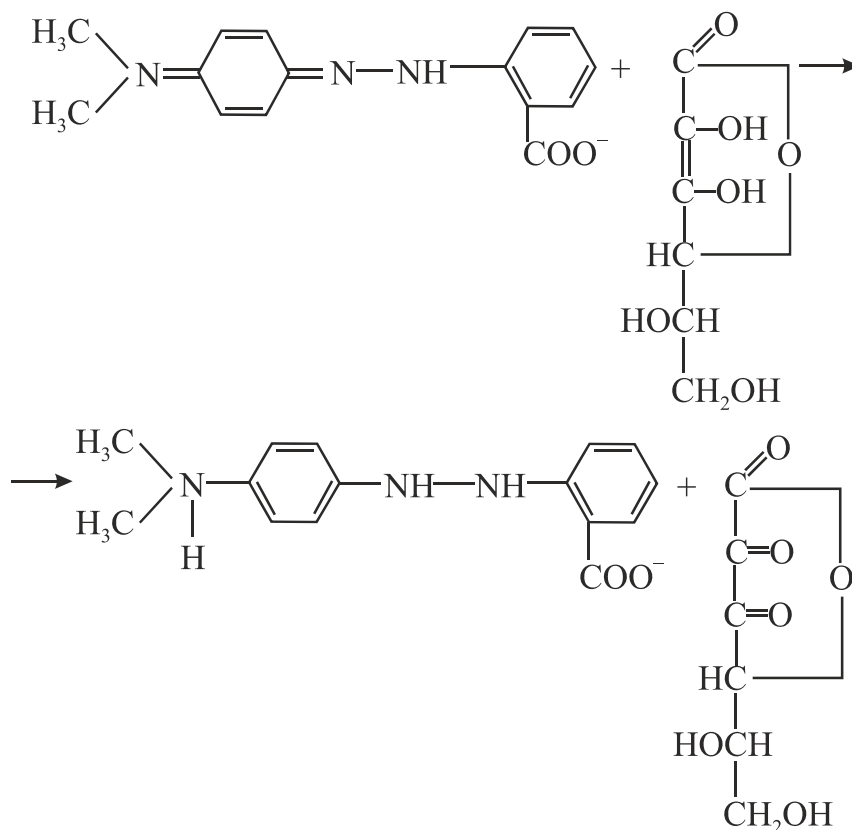
Перанос электронаў ад вады да акцэптара ў фотасістэме II ажыццяўляецца дзякуючы фотасенсібілізуючаму дзеянню ўзбуджанага святлом хларафілу рэакцыйнага цэнтра (*фотасенсібілізацыя* – наданне святлоадчувальнымі рэчывамі несвятлоадчувальным здольнасці да фотахімічных ператварэнняў).

Фотасенсібілізаваны хларафілам перанос электронаў (працэс акіслення – аднаўлення) можа адбывацца не толькі ў цэлых хларапластах, але і ў штучных, мадэльных сістэмах, якія змяшчаюць спіртавы раствор хларафілу. У мадэльнай сістэме, якая складаецца з донара электронаў (аскарбінавай кіслаты), акцэптара электронаў (метылавага чырвонага) і спіртавога раствору хларафілу, пад дзеяннем святла адбываецца фотасенсібілізаваны хларафілам перанос электронаў ад аскарбінавай кіслаты (АК) да метылавага чырвонага

(МЧ). Пры гэтым аскарбінавая кіслата акісляецца ў дэгідрааскарбінавую кіслату (ДГАК), а метылавы чырвоны аднаўляецца да неафарбаванага лейказлучэння. Па змене афарбоўкі раствору можна расказаць пра праходжанне рэакцыі.

Ход работы. У прабіркі № 1, 2 і 3 наліць па 3 мл спіртавой выцяжкі хларафілу, у чацвёртую прабірку – 3 мл спірту. Дадаць у прабіркі № 1, 2, 4 крышталічную аскарбінавую кіслату і растварыць яе пры ўстрэсванні да насычэння раствору. Лішак аскарбінавай кіслаты асядае на дно. Затым прыліць ва ўсе прабіркі па кроплях аднолькавую колькасць насычанага спіртавога раствору метылавага чырвонага, пакуль з'явіцца афарбоўка ў першых трох прабірках не набудзе буры колер, а раствор у чацвёртай прабірцы не афарбуецца ў чырвоны. Рэакцыйную сумесь добра страсянуць і адзначыць змяненне афарбоўкі.

Выставіць першую, трэцюю і чацвёртую прабіркі на святло перад яркай лямпай, другую прабірку трымаць у цемры. Для прадухілення награвання раствораў паміж прабіркамі і лямпай змясціць вадзяны экран – посуд з плоскапаралельнымі сценамі, напоўнены вадой. У доследнай прабірцы праз 10–20 хвіл метылавы чырвоны аднаўляецца:



Пра ход акісляльна-аднаўляльнай рэакцыі сведчыць змена афарбоўкі раствору.

Прааналізаваць вынікі доследу ў кожнай прабіркцы і зрабіць вывад пра фотасенсібілізуючае дзеянне хларафілу.

Вынікі доследу запісаць у форме табліцы:

№ прабірак	Склад рэакцыйнай сумесі	Умовы доследу	Афарбоўка раствору	
			у пачатку доследу	пасля заканчэння доследу
1 – вопыт	Спіртавы раствор хларафілу + аскарбінавая кіслата + метылавы чырвоны	Святло		
2 – кантроль	Спіртавы раствор хларафілу + аскарбінавая кіслата + метылавы чырвоны	Цемра		
3 – кантроль	Спіртавы раствор хларафілу + метылавы чырвоны	Святло		
4 – кантроль	Спірт + аскарбінавая кіслата + метылавы чырвоны	Святло		

Абсталяванне і матэрыялы: лампа 100 Вт; штатыў; прабірккі; выцяжка пігментаў зялёнага ліста; крышталічная аскарбінавая кіслата; этылавы спірт; насычаны спіртавы раствор метылавага чырвонага.

Кантрольныя пытанні. Якія працэсы адбываюцца ў светлавой фазе фотасінтэзу з удзелам хларафілу? Што ўключае ў сябе фотасістэма? У якой фотасістэме адбываецца фотаакісленне вады? У якой фотасістэме адбываецца аднаўленне НАДФ⁺? Што ёсць фотасінтэтычнае фасфарыляванне? За кошт якой энергіі ўтвараюцца макраэргічныя сувязі АТФ пры фотафасфарыляванні? Даць азначэнне працэсу фотасенсібілізацыі. Якая роля хларафілу рэакцыйнага цэнтра ў пераносе электронаў вады да НАДФ⁺? Якую ролю выконваюць ў мадэльнай сістэме аскарбінавая кіслата і метыленавы чырвоны? Па якіх змяненнях у раствору можна меркаваць пра фотасенсібілізаваны перанос электронаў у мадэльнай сістэме?

Лабараторная работа № 13 ІНТЭНСІЎНАСЦЬ ФОТАСІНТЭЗУ РАСЛІНЫ

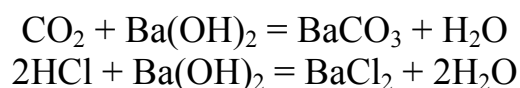
Агульныя палажэнні. Для характарыстыкі асіміляцыйнай дзейнасці раслін выкарыстоўваецца паказчык *інтэнсіўнасці фотасінтэзу* (I_{ϕ}). У адпаведнасці з агульным ураўненнем фотасінтэзу I_{ϕ}

можа быць вызначана па колькасці паглынутага CO_2 , выдзеленага O_2 ці сінтэзаваных вугляводаў. Часцей выкарыстоўваецца першы паказчык. У гэтым выпадку інтэнсіўнасць фотасінтэзу вызначаецца колькасцю міліграмаў паглынутага CO_2 за адну гадзіну адным квадратным дэцыметрам ліставой паверхні – $\text{мг/гадз} \cdot \text{дм}^2$.

На ход фотасінтэзу вялікі ўплыў робяць як унутраныя фактары (від расліны, узрост, змяшчэнне хларафілу, адцёк асімілятаў і інш.), так і знешнія (асветленасць, канцэнтрацыя вуглекіслаты, тэмпература, узровень забеспячэння мінеральнымі элементамі і вадой).

Вылучаюць сапраўдны, ці брута-фотасінтэз, і чысты, ці нета-фотасінтэз. Чысты фотасінтэз адрозніваецца ад сапраўднага на велічыню дыхання.

Метад, які выкарыстоўваецца ў дадзенай рабоце, заснаваны на ўліку колькасці вуглекіслаты, паглынутай раслінай у замкнутай прасторы з пастаянным аб'ёмам паветра. Для гэтага неабходны дзве колбы: доследная і кантрольная. Частка CO_2 у доследнай колбе паглынаецца лістом, рэшткі звязваюцца гідравокісам барыю. У кантрольнай колбе ўся вуглекіслата рэагуе са шчолаччу. Барыт, які не ўступіў у рэакцыю, цітруецца салянай кіслатай:



Па рознасці HCl , выкарыстанай на цітраванне ў доследнай і кантрольнай колбах, вызначаецца колькасць паглынутага лістом CO_2 .

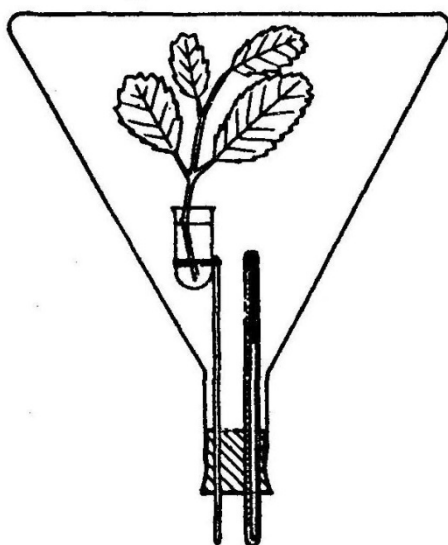
З прыведзеных ураўненняў відаць, што грам-моля HCl адпавядае 0,5 грам-моля CO_2 , г. зн. $44 : 2 = 22$ г. У 1 мл 0,025Н салянай кіслаты ўтрымліваецца 0,000025 грам-моля HCl . Такім чынам, 1 мл 0,025Н салянай кіслаты адпавядае $22 \cdot 0,000025 = 0,00055$ г = 0,55 мг CO_2 .

Гэтым метадам можа вызначацца таксама і інтэнсіўнасць дыхання расліны. Калі вызначаецца інтэнсіўнасць дыхання ліста, доследная колба ставіцца ў цемру.

Ход работы. Запоўніць паветрам дзве аднолькавыя па аб'ёме колбы шляхам прадзімання гумавай грушай ці пакінуўшы адкарыкаванымі ў аднолькавых умовах на працягу каля 30 хвіл.

У адну колбу ўставіць корак з прымацаваным да яго лістом, змешчаным ў прабірку з вадой (мал. 8). У другую, кантрольную колбу ліст не змяшчаецца, яна выкарыстоўваецца для вызначэння зыходнай колькасці вуглекіслаты ў паветры. Пры выкананні работы не дапускаць награвання колб рукамі. Адзначыць па гадзінніку час пачатку доследу. Працягласць доследу павінна быць такой,

каб ліст паглынуў не больш за 25% CO_2 , якая знаходзіцца ў колбе. Пры добрым асвятленні экспазіцыя ў доследзе з літравай колбай павінна быць каля 5 хвіл, з большымі – 15–20 хвіл.



Мал. 8. Колба для вымярэння інтэнсіўнасці фотасінтэзу

Пасля заканчэння доследу хутка дастаць з колбы ліст і адразу ж заткнуць яе запасным коркам з адтулінай, у якую ўстаўлена шкляная палачка. Замяніць корак таксама і ў кантрольнай колбе. Адзначыць час заканчэння доследу.

Заліць у кожную колбу праз адтуліну ў корку (шкляная палачка для гэтага часова вымаецца) дакладна па 20 мл 0,025N раствору $\text{Ba}(\text{OH})_2$ і 2–3 кроплі фенолфталеіну. Закрыць адтуліны шклянымі палачкамі. Коркі і палачкі папярэдне змачыць вадой з мэтай забеспячэння герметычнасці. Для поўнага паглынання вуглекіслаты колбы перыядычна ўстрэсваць на працягу 20 хвіл. Гэтаму будзе садзейнічаць таксама павелічэнне плошчы ўзаемадзеяння $\text{Ba}(\text{OH})_2$ і CO_2 , калі асцярожна змочваць сценкі колбы. Адцітраваць лішак барыту 0,025N салянай кіслатой да знікнення ружовай афарбоўкі. Вызначыць рознасць HCl , зрасходаванай на ціраванне барыту ў кантрольнай і доследнай колбах. Разлічыць колькасць паглынутага вуглекіслаты, зыходзячы з таго, што 1 мл кіслаты адпавядае 0,55 мг CO_2 .

Вызначыць плошчу лістоў. Для гэтага выказаць з аднароднай па шчыльнасці паперы тры квадраты 5×5 см, узважыць іх на тарзійных вагах і вызначыць сярэдняю масу адзінкі плошчы паперы. Абвесці на гэтай жа паперы контур ліста без чаранка, выказаць і ўзважыць.

Ведаючы масу адзінкі плошчы паперы і масу выразанага з паперы ліста, разлічыць плошчу ліста.

Вызначыць інтэнсіўнасць чыстага фотасінтэзу ў міліграмах паглынутага CO_2 за гадзіну на дэцыметр квадратны паверхні ліста.

Вынікі запісаць у табліцу па наступнай форме:

Варыянт доследу	Працяг- ласць доследу, хвіл	Пло- шча ліста, дм^2	Зрасхо- давана на цitra- ванне HCl , мл	Паглы- нута CO_2 , мг	Інтэнсіўнасць чыстага фотасінтэзу, $\text{мг/дм}^2 \cdot \text{гадз}$
Кантроль					
Святло					

Варыянты выканання работы: з лістамі розных раслін, з лістамі адной расліны пры рознай асветленасці.

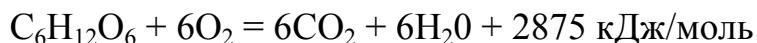
Зрабіць адпаведныя вывады.

Абсталяванне і матэрыялы: колбы на 1500 мл з коркамі (2 шт.); коркі са шклянымі палачкамі (2 шт.); бюрэткі для раствораў (2 шт.); нажніцы; лінейка; 0,025N растворы HCl і $\text{Ba}(\text{OH})_2$; фенолфталеін у кропельніцы; папера; лісты раслін.

Кантрольныя пытанні. Растлумачыць сутнасць метаду вызначэння інтэнсіўнасці фотасінтэзу ў замкнутай прасторы. Паказаць, якой колькасці CO_2 адпавядае 1 мл 0,02N, 0,1N, 0,05N раствору HCl . Як разлічваецца інтэнсіўнасць чыстага фотасінтэзу, сапраўднага фотасінтэзу? Які фотасінтэз большы – чысты ці сапраўдны? Назавіце ўнутраныя фактары, якія ўплываюць на фотасінтэз. Якія знешнія фактары ўплываюць на фотасінтэз? Як і чаму залежыць фотасінтэз ад святла, тэмпературы, канцэнтрацыі CO_2 ? Якая фаза фотасінтэзу залежыць ад тэмпературы? Якое практычнае значэнне маюць веды пра залежнасць фотасінтэзу ад знешніх фактараў?

4. ДЫХАННЕ

Дыханне – працэс аэробнага акіслення пажыўных арганічных рэчываў да вуглякіслага газу і вады з мэтай атрымання энергіі і хімічна актыўных метабалітаў, якія выкарыстоўваюцца клеткай для працэсаў жыццядзейнасці. Агульнае ўраўненне дыхання наступнае:



Фізіялагічная роля дыхання разнастайная. Пры акісленні арганічных злучэнняў выслабляецца і фіксуецца ў макраэргічных сувязях АТФ захаваная ў іх энергія святла. У гэтай форме энергія выкарыстоўваецца на падтрыманне розных працэсаў жыццядзейнасці арганізма: біясінтэзу, актыўнага паглынання і транспартавання рэчываў, руху, росту і інш. Таксама ў ходзе дыхання атрымваюцца прамежкавыя прадукты (метабаліты), якія з'яўляюцца зыходным субстратам для сінтэзу бялкоў, нуклеінавых кіслот, ліпідаў і шэрагу іншых рэчываў. Пры дыханні адбываецца акісляльнае разбурэнне атрутных рэчываў, якія трапілі ў арганізм. Разнастайнасць функцый дыхання забяспечваецца багаццем шляхоў акіслення субстрату.

Дыханне – гэта мноства звязаных паміж сабой біяхімічных рэакцый, якія каталізуюцца ферментамі. Сярод іх галоўную ролю адыгрываюць акісляльна-аднаўляльныя ферменты – *дэгідрогеназы* і *аксідазы*.

Дыханне цесна звязана з іншымі працэсамі жыццядзейнасці і таму непасрэдна ўплывае на прадукцыйнасць і ўстойлівасць раслін.

Лабараторная работа № 14 ЗАЛЕЖНАСЦЬ ІНТЭНСІЎНАСЦІ ДЫХАННЯ НАСЕННЯ АД ТЭМПЕРАТУРЫ

Агульныя палажэнні. Для характарыстыкі працэсу дыхання выкарыстоўваецца паказчык *інтэнсіўнасць дыхання*. Гэты паказчык можа вызначацца па колькасці выдзеленай вуглекіслаты, паглынутага кіслароду ці зрасходаваных на дыханне арганічных рэчываў у міліграмах на 1 г масы расліны за гадзіну – мг/г·гадз.

Дыханне як сукупнасць ферментатыўных рэакцый залежыць ад тэмпературы. Пры павышэнні тэмпературы ад мінімальнага значэння да оптымума дыханне расце амаль што як і хуткасць

звычайнай рэакцыі ў адпаведнасці з законам Вант-Гофа: $Q_{10} \approx 2$. Пры далейшым росце тэмпературы інтэнсіўнасць дыхання зніжаецца ў сувязі з інактывацыяй ферментаў.

У дадзенай рабоце інтэнсіўнасць дыхання вызначаецца па выдзеленай вуглекіслаце ў замкнутай прасторы. Тэарэтычныя асновы метадыкі работы падрабязна апісаны ў лаб. рабоце № 13.

Ход работы. Дзве наважкі насення па 10 г завязаць ніткамі ў марлевыя сурвэткі. Прымацаваць кулькі з насеннем за кручкі да коркаў. У тры праветраныя колбы наліць дакладна па 25 мл 0,025Н раствору $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Закаркаваць колбы, змясціўшы ў дзве з іх наважкі насення. Адну колбу з насеннем пакінуць пры пакаёвай тэмпературы, другую паставіць у тэрмастат пры $t = 35^\circ\text{C}$. Адзначаць час пачатку доследу. Колбы перыядычна ўстрэсваць, асцярожна змочваючы сценкі.

Праз 30 хвіл хутка замяніць коркі ў колбах на запасныя, з устаўленымі ў іх шклянымі палачкамі. Уліць у колбы па 2–3 кроплі фенолфталеіну і адцітраваць лішак барыту 0,025Н салянай кіслотой. Разлічыць колькасць выдзеленай вуглекіслаты і інтэнсіўнасць дыхання ў кожным варыянце доследу (гл. лаб. работу № 13).

Вынікі запісаць у табліцу па наступнай форме:

Варыянт доследу	Працяг- ласць доследу, хвіл	Маса насен- ня, г	Зрасхода- вана HCl , мл	Выдзе- лена CO_2 , мг	Інтэнсіўнасць, дыхання мг/г · гадз
Кантроль					
18°C					
35°C					

Зрабіць вывады пра ўздзеянне тэмпературы на дыханне. Даведацца па падручніку пра залежнасць дыхання раслін ад тэмпературы і прывесці адпаведны графік, паказаць на графіку зону аптымальных тэмператур, даць тлумачэнні.

Абсталяванне і матэрыялы: вагі тэхнічныя; колбы на 1500 мл з коркамі (3 шт.); коркі са шклянымі палачкамі (3 шт.); бюрэткі для раствораў (2 шт.); марлевыя сурвэткі (2 шт.); ніткі; 0,025Н раствораў HCl і $\text{Ba}(\text{OH})_2$; фенолфталеін у кропельніцы; прарослае насенне.

Кантрольныя пытанні. Што ёсць дыханне? Напішыце ўраўненне дыхання. Якая фізіялагічная роля дыхання? Да якога класа і якіх падкласаў адносяцца асноўныя ферменты дыхання? Сутнасць метаду вызначэння інтэнсіўнасці дыхання. Паказаць, якой коль-

касці CO_2 адпавядае 1 мл 0,02Н, 0,1Н, 0,05Н раствору HCl . Як разлічваецца інтэнсіўнасць дыхання? Якія знешнія фактары ўплываюць на дыханне? Як і чаму залежыць дыханне ад тэмпературы, канцэнтрацыі O_2 ? Чаму пры прарастанні насення інтэнсіўнасць дыхання значна ўзрастае? У колькі разоў узрастае інтэнсіўнасць дыхання пры павелічэнні тэмпературы на дзесяць градусаў?

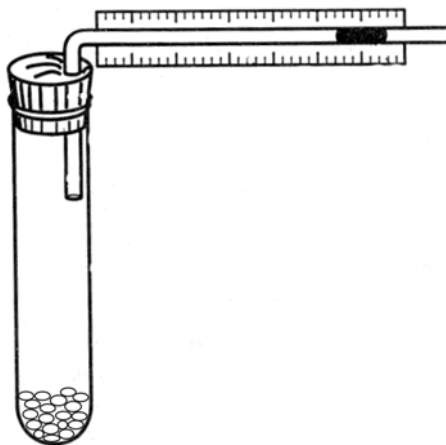
Лабараторная работа № 15 ДЫХАЛЬНЫ КАЭФІЦЫЕНТ НАСЕННЯ

Агульныя палажэнні. Дыхальны каэфіцыент паказвае малярныя ці аб'ёмныя суадносіны паміж выдзеленай вуглекіслатай і паглынутым кіслародам:

$$\text{ДК} = \text{CO}_2 / \text{O}_2.$$

У адпаведнасці з агульным ураўненнем дыхання пры акісленні вугляводаў $\text{ДК} = 1$. Пры акісленні больш адноўленых злучэнняў, такіх, як бялкі і алеі, патрабуецца больш кіслароду і $\text{ДК} < 1$. Калі ж у якасці субстратаў дыхання выступаюць высокаакісленыя злучэнні, напрыклад арганічныя кіслоты, $\text{ДК} > 1$.

Ход работы. Запоўніць прабірку прарослым насеннем на $2/3$ яе аб'ёму, шчыльна заткнуць коркам з мернай трубкай (мал. 9).



Мал. 9. Прыбор для вызначэння
дыхальнага каэфіцыента

Папярэдне ўвесці ў трубку кроплю вады. Калі для доследу выкарыстоўваецца насенне алейных культур, кропля павінна размяшчацца бліжэй да канца трубкі (на адлегласці 1,0–1,5 см ад краю), калі іншае – бліжэй да прабіркі. Трымаць прабірку на

працягу доследу ва ўмовах з пастаяннай тэмпературай (паставіць у шклянку з ватай).

Праз 10 хвіл зрабіць паслядоўна некалькі адлікаў з інтэрвалам 5 хвіл і разлічыць сярэднюю адлегласць, пройдзеную кропляй вады за гэты час. Перамяшчэнне кроплі ўказвае на змяненне аб'ёму паветра ў прабірцы, роўнае рознасці паміж аб'ёмамі паглынутага кіслароду і выдзеленай вуглекіслаты. Калі аб'ём CO_2 меншы за O_2 , кропля будзе рухацца ў бок прабірки ($\text{ДК} < 1$) і рознасць аб'ёмаў будзе

$$\Delta V_1 = V_{\text{O}_2} - V_{\text{CO}_2}.$$

У адваротным выпадку кропля перамяшчаецца ад прабірки ($\text{ДК} > 1$) і рознасць аб'ёмаў будзе

$$\Delta V_2 = V_{\text{CO}_2} - V_{\text{O}_2}.$$

Калі $\text{ДК} = 1$, кропля перамяшчаецца не будзе.

Вызначыўшы ΔV , адкаркаваць і праветрыць прабірку. Пакласці ў яе пінцэтам складзеную гармонікам і змочаную ў канцэнтраваным растворе шчолачы фільтравальную паперу. Затым паўтарыць дослед. Цяпер утвораная пры дыханні вуглекіслата паглынаецца шчолаччу і змяненне аб'ёму паветра ў прабірцы $\Delta V_3 = V_{\text{O}}$. З прыведзеных ураўненняў вынікае, што аб'ём выдзеленай вуглекіслаты ў выпадку перамяшчэння кроплі вады ад прабірки вызначаецца як

$$V_{\text{CO}_2} = \Delta V_3 + \Delta V_2.$$

У выпадку, калі кропля вады рухаецца ў бок прабірки

$$V_{\text{CO}_2} = \Delta V_3 - \Delta V_1.$$

Аб'ект даследа- вання	Варыянт доследу	Накірунак перамя- шчэння кроплі вады	Змяненне аб'ёму паветра ΔV за 5 хвіл, мл				Паглы- нута O_2 , мл (V_{O_2})	Выдзе- лена CO_2 , мл (V_{O_2})	ДК
			1	2	3	сярэдняя			
	са шчо- лаччу								
	без шчо- лачы								

Адпаведна дыхальны каэфіцыент разлічваецца па наступных формулах:

$$\text{ДК} = (\Delta V_3 + \Delta V_2) / \Delta V_3;$$

$$\text{ДК} = (\Delta V_3 - \Delta V_1) / \Delta V_3.$$

Калі кропля застаецца на месцы, $\Delta V = 0$ і $ДК = 1$.

Вынікі доследу запісаць па прыведзенай вышэй форме табліцы.

Дослед у адпаведнасці з заданнем можа выконвацца з насеннем розных раслін: злакаў, бабовых, алейных.

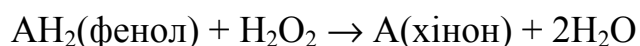
Па велічыні $ДК$ зрабіць вывад пра запасныя рэчывы насення і залежнасць $ДК$ ад віду дыхальнага субстрату.

Абсталяванне і матэрыялы: прабіркi (2 шт.); коркі з мернымі капілярнымі трубкi (2 шт.); фарфаравыя шклянкі (2 шт.); пінцэт; пясчаны гадзіннік на 5 хвіл; вата; фільтравальная папера; канцэнтраваны раствор шчолачы; прарослае насенне.

Кантрольныя пытанні. Што ёсць $ДК$? Як і чаму залежыць $ДК$ ад дыхальнага субстрату? Як разлічваецца $ДК$, калі кропля рухаецца ў бок прабіркi, ад прабіркi? Які будзе $ДК$, большы ці меншы за адзінку, у насення злакаў, хваёвых раслін, дубу, сланечніка? Разлічыць, які будзе $ДК$ пры акісленні да CO_2 і H_2O наступных рэчываў: $C_{18}H_{22}O_2$ – ліналевы трыгліцэрыд, $C_{12}H_{22}O_{11}$ – цукроза, $C_3H_4O_3$ – піравінаградная кіслата. Назавіце субстраты дыхання. Як уключаюцца ў працэс дыхання поліцукрыды, алей і бялкі?

Лабараторная работа № 16 **ПЕРАКСІДАЗНАЯ АКТЫЎНАСЦЬ** **РАСЛІННАЙ ТКАНКІ**

Агульныя палажэнні. Пераксідаза – складаны фермент класа аксідарэдуктазаў, які каталізуе акісленне фенолаў і ароматычных амінаў з дапамогай пераксіду вадароду, арганічнага перакісу ці кіслароду (акцэптараў вадароду). Схема працэсу:



Прастатычнай групай ферменту з'яўляецца жалезапарфірын. Пераксідаза функцыянуе ў цытаплазме клетак і разам з поліфенол-аксідазай удзельнічае ў ахоўнай рэакцыі раслін. Пры пашкоджанні тканак адбываецца акісленне фенолаў да хінонаў, атрутных для інфекцыі. Карычневая афарбоўка на зрэзах клубня бульбы, яблыка абумоўлена з'яўленнем хінонаў у выніку дзейнасці гэтых ферментаў. Многія хваробы раслін суправаджаюцца павышэннем актыўнасці пераксідазы і поліфенолаксідазы.

Ферментатыўная актыўнасць расліннай тканкі (A_ϕ) паказвае змяненне колькасці прадуктаў (p) біяхімічнай рэакцыі за 1с (t) на 1г сырой масы тканкі (m) і разлічваецца па формуле

$$A_{\phi} = p / tm, \text{ ці } A_{\phi} = v / m,$$

дзе $v = p / t$ ёсць хуткасць ферментатыўнай рэакцыі. *Хуткасць ферментатыўнай рэакцыі* залежыць ад колькасці і актыўнасці ферменту, канцэнтрацыі субстрату, наяўнасці інгібітараў і актыватараў, ад тэмпературы і рН асяроддзя.

У дадзенай рабоце колькасць прадуктаў рэакцыі адпавядае аптычнай шчыльнасці раствору (D). Гэта абумоўлена тым, што пры акісленні бясколерны фенол ператвараецца ў сіні хінон.

Ход работы. Расцерці ў ступцы з невялікай колькасцю ацэтатнага буферу 10–100 мг расліннага матэрыялу, перанесці гэтую масу ў мерны цыліндр і давесці ацэтатным буферам да 25 мл. Настаяць выцяжку 5–10 хвіл і цэнтрыфугаваць каля 5 хвіл пры 3000 аб./хвіл, папярэдне ўраўнаважыўшы цэнтрыфугавыя прабіркi з растворам. Асадак адкінуць, а надасадкавую вадкасць выкарыстаць у далейшай рабоце.

У кювету ФЭКа таўшчынёй 2 см наліць 2 мл надасадкавай вадкасці, 2 мл буферу і 2 мл раствору бензідыну. Паставіць кювету ў кюветатрымальнік ФЭКа і ўстанавіць стрэлку гальванометра ў нулявое становішча пры жоўтым святлафільтры. Даліць у кювету 2 мл 0,03%-нага раствору пераксіду вадароду піпеткай з шырокім носікам. Моцны струмень павінен перамяшаць змесціва кюветы. Адначасова з першай кропляй уключыць секундамер. Зачыніць накрыўку ФЭКа і запісаць адлікі па шкале аптычнай шчыльнасці прыбора праз кожныя 5 с. Адлікі рабіць, пакуль аптычная шчыльнасць раствору не дасягне 0,5–0,7. Канцэнтрацыя раствору павінна быць такой, каб аптычная шчыльнасць дасягала зададзенай велічыні прыкладна за 30–40 с. Гэта робіцца падборам з дапамогай выкладчыка масы наважкі ці дадатковым разбаўленнем раствору ў кювеце. У апошнім выпадку аб'ём выцяжкі ў кювеце памяншаецца на 1 ці 1,5 мл і на столькі ж трэба павялічыць аб'ём буферу.

Вызначэнне пераксідазнай актыўнасці праводзіцца ў двух варыянтах: у лістах верхняга і ніжняга ярусаў, у сцяблінках і карэньчыках праросткаў, у лістах розных раслін і інш.

Адлікі запісаць у табліцу па наступнай форме:

Аб'ект даследавання	Аптычная шчыльнасць раствору (D) праз інтэрвалы часу, с								
	0	5	10	15	20	25	30	35	40
	0								

Пабудоваць графікі змянення аптычнай шчыльнасці раствору з цягам часу. Згладзіць крывыя візуальна ці шляхам апраксімацыі на камп'ютары да атрыманых даных эмпірычнай мадэлі віду

$$D = 1 - e^{kt}.$$

Вызначыць па графіку значэнне аптычнай шчыльнасці (D), адпаведнае першым некалькім (1–3) секундам (t) працякання рэакцыі і разлічыць пераксідазную актыўнасць тканкі па формуле

$$A = D\alpha / tmc,$$

дзе D – аптычная шчыльнасць; α – ступень развядзення выцяжкі ў рэакцыйнай сумесі, разлічваецца шляхам дзялення аб'ёму рэакцыйнай сумесі (8 мл) на аб'ём выцяжкі, узятай для правядзення рэакцыі (w , мл); t – час, с; m – маса расліннай тканкі ў выцяжцы, узятай для правядзення рэакцыі, г (разлічваецца па формуле $m = wn / 25$, дзе n – агульная маса расліннага матэрыялу, які выкарыстоўваецца ў доследзе, г; w – аб'ём выцяжкі ў рэакцыйнай сумесі, мл); c – таўшчыня слоя вадкасці ў кювеце (2 см).

Вынікі запісаць у табліцу па наступнай форме:

Аб'ект даследавання	Наважка, г	Аб'ём выцяжкі ў рэакцыйнай сумесі, мл	Ступень развядзення выцяжкі	Час, узяты для разліку, с	Адпаведная часу аптычная шчыльнасць	Пераксідазная актыўнасць тканкі
---------------------	------------	---------------------------------------	-----------------------------	---------------------------	-------------------------------------	---------------------------------

Ферментатыўная актыўнасць выражаецца ў адзінках аптычнай шчыльнасці за 1 с на 1 г сырой масы расліннай тканкі і 1 см таўшчыні слоя рэакцыйнай сумесі.

Пры правядзенні разлікаў на камп'ютары спачатку вызначыць хуткасць рэакцыі ў першую секунду доследу як першую вытворную прыведзенай вышэй функцыі, затым ферментатыўную актыўнасць.

Зрабіць вывады пра ферментатыўную актыўнасць розных тканак. Зыходзячы з фізіялагічнай актыўнасці і стану раслін, а таксама ролі пераксідазы, выказаць меркаванні пра прычыны рознай ферментатыўнай актыўнасці аб'ектаў даследавання. Выкарыстоўваючы атрыманыя графікі, паказаць характар змянення хуткасці ферментатыўнай рэакцыі і даць адпаведныя тлумачэнні.

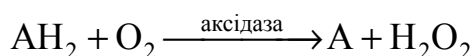
Абсталяванне і матэрыялы: мерная колба на 25 мл; піпеткі на 2 мл (3 шт.); парцэляваная ступка з песцікам; цэнтрыфугавыя прабіркi (4 шт.); цэнтрыфуга; секундамер; ФЭК; ацэтатны буфер з

pH 5,4; 0,03%-ны пераксід вадароду; раствор бензідыну на ацэтатным буферы; расліны; праросткі; клубні і інш.

Кантрольныя пытанні. Напішыце і растлумачце формулу вызначэння пераксідазнай актыўнасці. Як вызначаецца хуткасць ферментатыўнай рэакцыі? Якая роля пераксідазы ў жывой клетцы? Да якога класа і падкласа адносіцца пераксідаза? Які кафактар у гэтага ферменту? Складаны фермент пераксідаза ці просты? Якую ролю ў доследзе адыгрываюць бензідын, пераксід вадароду, буферны раствор? Чаму аптычная шчыльнасць раствору з цягам часу змяняецца па лагарыфмічнай крывой? У чым заключаецца методыка вызначэння хуткасці ферментатыўнай рэакцыі з дапамогай крывой змянення аптычнай шчыльнасці? Які оптымум pH для пераксідазы? Як зменіцца хуткасць ферментатыўнай рэакцыі ў доследзе пры павышэнні (паніжэнні) тэмпературы?

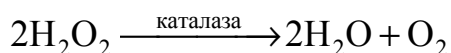
Лабараторная работа № 17 КАТАЛАЗНАЯ АКТЫЎНАСЦЬ РАСЛІННАЙ ТКАНКІ

Агульныя палажэнні. У працэсе акіслення шэрагу рэчываў у раслінах пад уздзеяннем аксідаз утвараецца пераксід вадароду:



дзе AH_2 – адноўлены субстрат; A – акіслены субстрат; аксідаза – фермент, які пераносіць вадарод непасрэдна на кісларод.

Пераксід вадароду – актыўны акісляльнік, таму аказвае таксічнае ўздзеянне на цытаплазму клетак. Фермент *каталаза* абясшкоджвае пераксід вадароду, раскладаючы яго на ваду і кісларод:



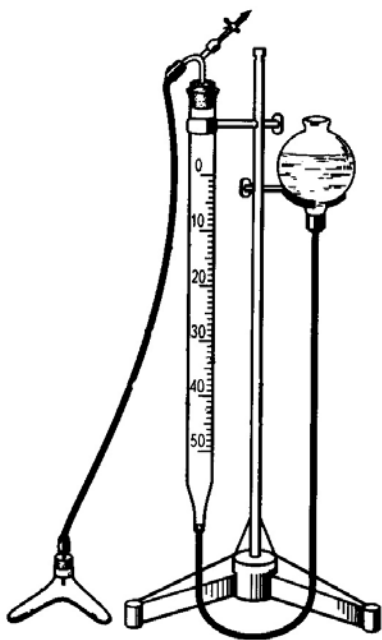
Гэты фермент найбольш актыўны ў маладых тканках, якія растуць. Каталаза – двухкампанентны фермент, які складаецца з бялку і прастэтычнай групы. У састаў прастэтычнай групы ўваходзіць жалеза.

Каталазная актыўнасць вызначаецца газаметрычным метадам, які заснаваны на ўліку аб'ёму кіслароду. Кісларод выдзяляецца пасля прыбаўлення пераксіду вадароду да воднага экстракту з раслін, у якім змяшчаецца каталаза.

Тлумачэнне сутнасці ферментатыўнай актыўнасці расліннай тканкі прыведзена ў папярэдняй рабоце.

Ход работы. Наважку ў 1–2 г свежих лістоў нарэзаць кавалачкамі і расцерці ў ступцы да аднароднай масы з 10 мл вады і 0,5–1,0 г CaCO_3 для стварэння слабашчолачнай рэакцыі, якая з’яўляецца аптымальнай для дзеяння каталазы. Атрыманую масу без страт перанесці ў мерны цыліндр ёмістасцю 50 мл. Давесці змесціва вадой да 40 мл, перамяшаць і выліць у шклянку. Сумесь настойваць 10–15 хвіл, перыядычна перамешваючы.

Перанесці піпеткай ў каталазнік 10 мл раствору з актыўным ферментам. Наліць у тыгель 5 мл 3%-най H_2O_2 і ўставіць яго пінцэтам у каталазнік. Асцярожна заткнуць каталазнік коркам ад газаметрычнага прыбора (мал. 10). Адкрыць заціск і перамяшчэннем водапрыёмніка ўстанавіць узровень вады ў бюрэтцы на нуль. Потым закрыць заціск, хуткім рухам перакуліць тыгель з пераксідам вадароду ў каталазнік, зрабіць праз кожныя 10–20 с па ўзроўню вады ў бюрэтцы 5–6 вызначэнняў аб’ёму кіслароду, які выдзяляецца. Пры адліку выраўноўваць ўзроўні вады ў бюрэтцы і водапрыёмніку, прыкладваючы апошнюю да бюрэткі.



Мал. 10. Устаноўка для вымярэння каталазнай актыўнасці

Пабудаваць графік змянення колькасці кіслароду ў залежнасці ад часу працякання рэакцыі. Вызначыць па графіку разліковыя значэнні аб’ёму газу і часу (гл. лаб. работу № 16).

Дослед праводзіцца ў некалькіх варыянтах. Параўноўваецца каталазная актыўнасць розных органаў, лістоў розных раслін, лістоў рознага ўзросту і інш.

Разлічыць ферментатыўную актыўнасць па формуле

$$A = V / tm,$$

дзе V – аб'ём кіслароду, мл, за перыяд часу t , хвіл; m – маса наважкі, г.

Вынікі занесці ў табліцу па наступнай форме:

Аб'ект даследавання	Наважка, г	Разліковыя значэнні		Каталазная актыўнасць, мл/г·хвіл
		аб'ёму кіслароду, мл	інтэрвалу часу, с	

Зрабіць вывады пра каталазную актыўнасць розных тканак. Зыходзячы з фізіялагічнай актыўнасці і стану раслін, а таксама ролі каталазы, выказаць меркаванні пра прычыны рознай ферментатыўнай актыўнасці аб'ектаў даследавання. Выкарыстоўваючы атрыманыя графікі, паказаць характар змянення хуткасці ферментатыўнай рэакцыі і даць адпаведныя тлумачэнні.

Абсталяванне і матэрыялы: фарфоровыя ступкі з песцікам; цыліндры ёмістасцю 50 мл; прыбор для вызначэння актыўнасці каталазы; піпеткі на 5 мл; секундамер; вагі тэхнічныя; шкляныя палачкі; 3%-ны раствор пераксіду вадароду; CaCO_3 ; кварцавы пясок; лісты раслін; парасткі раслін.

Кантрольныя пытанні. Напішыце і растлумачце формулу вызначэння каталазнай актыўнасці. Як вызначыць хуткасць ферментатыўнай рэакцыі? Як і чаму мяняецца хуткасць ферментатыўнай рэакцыі ў доследзе? Якая методыка вызначэння хуткасці ферментатыўнай рэакцыі з дапамогай крывой змянення аб'ёму выдзяляемага кіслароду? Як зменіцца хуткасць ферментатыўнай рэакцыі ў доследзе пры павышэнні (паніжэнні) тэмпературы? Якая роля каталазы ў жывой клетцы? Да якога класа і падкласа адносіцца каталаза? Які кафактар у гэтага ферменту? Складаны фермент каталаза ці просты?

5. АСНОВЫ МІКРАБІЯЛОГІІ

Мікрабіялогія – навука пра жыццядзейнасць мікраарганізмаў. У гэтую групу жывых істот уваходзяць бактэрыі, мікраскапічныя грыбы, водарасці і прасцейшыя. Мікраарганізмы ўдзельнічаюць у працэсах ператварэння рэчываў у біясферы і гэтым забяспечваюць магчымасць існавання іншых жывых арганізмаў, у тым ліку і раслін. Глобальнае значэнне маюць мікраарганізмы, якія прымаюць удзел у працэсах кругавароту вугляроду, азоту і серы.

Мікраарганізмы шырока распаўсюджаны ў прыродным асяроддзі: глебе, вадзе, паветры.

Лабараторная работа № 18 КОЛЬКАСНАЕ ЗМЯШЧЭННЕ МІКРААРГАНІЗМАЎ У ГЛЕБЕ

Агульныя палажэнні. Глеба ўяўляе сабой прыроднае асяроддзе, багата заселенае мікраарганізмамі. У адным граме глебы ўтрымліваецца ад 1 да 10 млрд клетак мікраарганізмаў. З удзелаў глебавай сапрафітнай мікрафлоры працякаюць працэсы раскладання прыродных арганічных рэчываў.

Колькасць мікраарганізмаў у глебе можна вызначыць метадамі прамога мікраскапавання або пасеву з разведзенай глебавай завісі на шчыльныя ці вадкія асяроддзі. Паколькі ў глебе ўтрымліваецца шмат мікраарганізмаў, то пры вызначэнні іх колькасці метадам пасеву глебавая завісь разводзіцца ў 10 000–100 000 разоў. У сувязі з тым, што не ўсе мікраарганізмы могуць размнажацца на пажыўным асяроддзі, гэты метад у параўнанні з мікраскапаваннем заніжае вынік прыблізна ў 1000 разоў. Аднак ён дазваляе выявіць не толькі колькасць, але і склад мікрафлоры па сістэматычных групах. Пра змест і сістэматычную прыналежнасць мікраарганізмаў можна меркаваць па колькасці калоній, якія выраслі на пажыўным асяроддзі.

Ход работы. Узважыць 1 г прасеянай праз сіта доследнай глебы, унесці яе ў колбу з 99 мл стэрыльнай водаправоднай вады і боўтаць на працягу 1 хвіл. Пасля 0,5 хвіл адстойвання ўзяць стэрыльнай піпеткай 1 мл глебавай завісі і ўнесці яе ў другую колбу з 99 мл стэрыльнай вады. Боўтаць на працягу 1 хвіл і адстойваць 0,5 хвіл. Такім чынам зыходны ўзор глебы разводзіцца ў 10 000 разоў.

Злёгка падымаючы крышку, наліць другой стэрыльнай піпеткай у стэрыльную чашку Петры 1 мл атрыманай завісі і зверху заліць папярэдне расплаўленым ў прабірках на вадзяной бані пажыўным асяроддзем. Тэмпература асяроддзя не павінна перавышаць 50°C. Асцярожным калыханнем чашкі размяшаць глебавую завісь з пажыўным асяроддзем. Пасля застывання асяроддзя чашкі загарнуць у паперу, этыкетавать і змясціць у тэрмастат пры тэмпературы 25–30°C. Праз тры дні падлічыць калоніі мікраарганізмаў, якія выраслі, знайсці сярэдняе з усіх чашак і вызначыць колькасць мікраарганізмаў у 1 г глебы з улікам развядзення.

Атрыманыя даныя запісаць у табліцу.

Даследуе- мы аб'ект	Нумар чашкі Петры	Ступень развядзення	Коль- касць калоній у чашцы	Колькасць мікра- арганізмаў ў 1 г глебы па варыянтах доследу, шт.	Сярэдняя колькасць мікраарга- нізмаў, шт.
------------------------	-------------------------	------------------------	--------------------------------------	--	--

Абсталяванне і матэрыялы: стэрыльныя чашкі Петры; стэрыльныя колбы (2 шт.); вадзяная баня; спіртоўка; запалкі; сіта з ячэйкамі 1 мм; вагі; тэрмастат; варонка; стэрыльны мерны цыліндр; стэрыльныя піпеткі (2 шт.); прабірка са стэрыльным мясапептонным агарам; доследная глеба; стэрыльная вада.

Кантрольныя пытанні. Якія арганізмы вывучае мікрабіялогія? Якое значэнне і чаму маюць мікраарганізмы для іншых жывых арганізмаў? Колькі мікраарганізмаў утрымліваецца ў 1 г глебы? Чаму ў глебе змяшчаецца значна больш мікробаў, чым у паветры? Якімі метадамі можна вызначыць колькасць мікраарганізмаў у глебе, сутнасць метадаў? Чаму метада прамога мікраскапавання дае значна большыя вынікі, чым метада пасеву?

Лабараторная работа № 19 СПІРТАВОЕ БРАДЖЭННЕ

Агульныя палажэнні. Спіртавое браджэнне – працэс анаэробнага распаду цукраў (мона- і дыцукрыдаў) да этылавага спірту і вуглекіслаты:



Ажыццяўляецца спіртавое браджэнне некаторымі відамі бактэрыяў (*Sarcina*), асобнымі прадстаўнікамі мукаравых грыбоў і дрожджавымі грыбамі з мэтай атрымання энергіі для жыццядзейнасці.

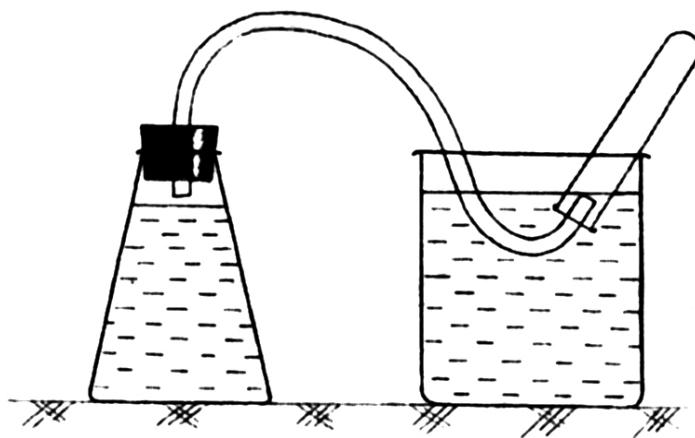
Практычнае значэнне маюць толькі дрожджы. У аэробных умовах яны здольны акісляць глюкозу да вуглякіслага газу і вады (дыханне). У гэтым выпадку выхад энергіі значна большы і роўны 1591 кДж/моль.

Дрожджы сустракаюцца на паверхні раслін, пладоў, ягад, у паветры, глебе. Гэта нерухомыя, аднаклетачныя арганізмы велічыней 8–15 мкм. Форма клетак – круглая, авальная або падоўжаная, утрымлівае добра прыкметнае пад мікраскопам ядро.

У дадзенай рабоце спіртавое брадженне выяўляецца па канцавых прадуктах.

Ход работы. У невялікую колбу наліць каля 100 мл цёплай вады, пакласці лыжачку цукровага пяску і паўлыжачкі здробненых дрожджаў. Змесціва колбы боўтаць да поўнага растварэння цукру. Закрыць колбу коркам з устаўленай у яго выгнутай трубкой і, пры неабходнасці, загерметызаваць пластылінам. Адцягнуты канец газаадводнай трубки апусціць у шклянку з вадой.

Спачатку з трубки выходзяць бурбалкі паветра. Калі з прыбора будзе выцеснена ўсё паветра, канец газаадводнай трубки падвесці пад адтуліну прабірка, напоўненай вадой, перавернута і пастаўленай у шклянку з вадой (мал. 11).



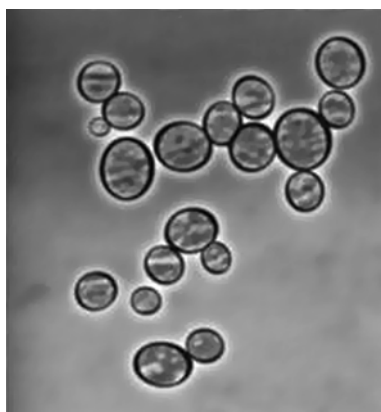
Мал. 11. Устаноўка для вывучэння спіртавога брадження

Калі прабірка напоўніцца газам, дастаць яе з вады і ўвесці ў яе падпаленую лучыну. Лучынка імгненна згасе, што паказвае на прысутнасць вуглякіслага газу. Пасля гэтага канец газаадводнай трубки апусціць у шклянку з празрыстай вапнавай вадой. Бурбалкі газу, якія выдзяляюцца з трубки, узмучваюць вапнавую вадку, што таксама служыць доказам выдзялення з прыбора вуглякіслага газу.

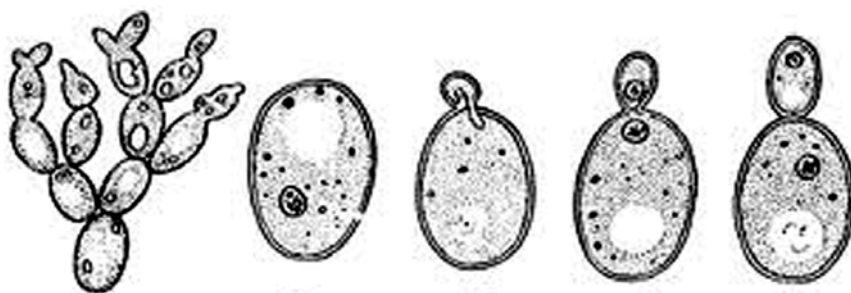
Вывіць наяўнасць спірту ў вадкасці, дзе ідзе брадженне, з дапамогай рэакцыі ўтварэння ёдаформу. Рэакцыя заснавана на тым, што спірт з крышталічным ёдам у шчолачным асяроддзі пры награванні да 60–70°C утварае ёдаформ. Для правядзення якаснай рэакцыі зліць верхні пласт вадкасці з колбы ў прабірку (да 1/4 яе вышыні), давесці рН да шчолачнай рэакцыі па лакмусу даданнем Na_2CO_3 , дадаць крышталі ёду і грэць на вадзяной бані пры тэмпературы 60–70°C да поўнага растварэння і абескаляроўвання ёду. Пры астуджэнні змесціва прабіркі ў растворы выяўляюцца светла-жоўтыя крышталі ёдаформу з характэрным пахам. Рэакцыя ўтварэння ёдаформу ідзе ў тры этапы:

1. $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{I}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + 2\text{HI}$
2. $\text{CH}_3\text{CHO} + 3\text{I}_2 \rightarrow \text{CI}_3\text{CHO} + 3\text{HI}$
3. $\text{CI}_3\text{CHO} + \text{NaOH} \rightarrow \text{CHI}_3\downarrow + \text{HCOONa}$

Намаляваць устаноўку для вывучэння спіртавога брадження, запісаць вынікі доследу па выяўленні CO_2 і спірту. Разгледзець прэпарат дрожджаў пад мікраскопам і замаляваць яго (мал. 12).



a



б

Рис. 12. Дрожжи:

a – выгляд пад мікраскопам; *б* – пачкаванне дражджавых клетак

Абсталяванне і матэрыялы: мікраскоп; вадзяная баня; колба ёмістасцю 250 мл; корак з газаадводнай трубкай; шклянка; гарбатная лыжка; прабірка; лучынкi; запалкі; лакмусавая папера; дрожджы прэсаваныя; цукровы пясок; барытавая або вапнавая вада; крышталічны ёд; 20%-ны раствор Na_2CO_3 .

Кантрольныя пытанні. Даць азначэнне браджэння. Якая фізіялагічная роля браджэння? Назваць асноўныя віды браджэння і прывесці іх ураўненні. Чым адрозніваецца браджэнне ад дыхання? Як называюцца арганізмы, якія жывуць у асяроддзі без кіслароду? Якімі мікраарганізмамі ажыццяўляецца спіртавое браджэнне? Як у доследзе выяўляецца спіртавое браджэнне? Які выгляд маюць клеткі дрожджаў пад мікраскопам?

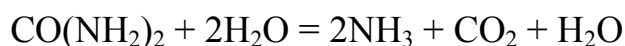
Лабараторная работа № 20

АМАНІФІКАЦЫЯ МАЧАВІНЫ

Агульныя палажэнні. Аманіфікацыя – гэта ператварэнне арганічных форм азоту (азоту бялкоў, мачавіны і інш.) у аміячны азот. Яе выклікаюць розныя мікраарганізмы (бактэрыі, грыбы).

Мікраарганізмы, якія выклікаюць аманіфікацыю *бялковых* рэчываў, выдзяляюць у навакольнае асяроддзе пратэалітычныя ферменты, пад дзеяннем якіх гэтыя рэчывы гідралізуюцца да амінакіслот. Амінакіслоты трапляюць у мікробную клетку і ў ёй дэзамінуюцца з утварэннем аміяку, арганічных кіслот і іншых прадуктаў. Пры раскладанні бялкоў выдзяляюцца таксама H_2S , меркаптаны, скатол і індол, якія маюць непрыемны пах. Аманіфікацыя бялковых рэчываў праходзіць у аэробных умовах (узбуджальнік – бактэрыя *Bacillus mycoides*) і ў анаэробным асяроддзі (*Clostridium putrificus*).

Мачавіна – канцавы прадукт ператварэння злучэнняў азоту ў арганізме жывёл. Аманіфікацыю мачавіны выклікаюць бактэрыі *Bacillus pasteurii*, радзей – *Planosarcina ureae* і інш. Гэтыя мікраарганізмы выпрацоўваюць эксафермент урэазу, які гідралізуе мачавіну да аміяку:



У якасці крыніцы вугляроду яны выкарыстоўваюць некаторыя вугляводы і солі арганічных кіслот.

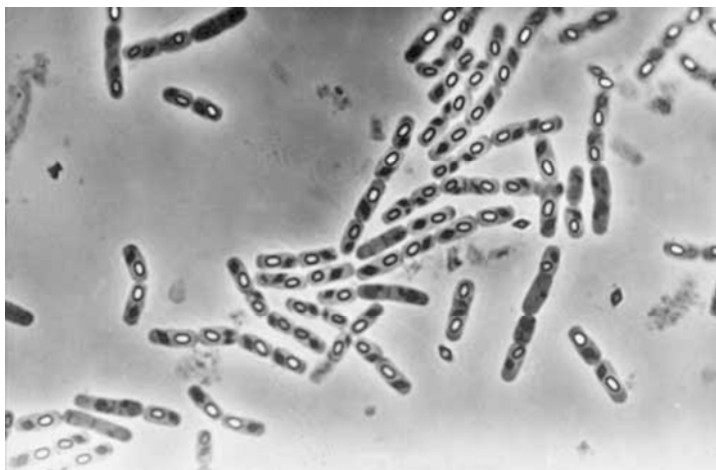
Ход работы. У колбу на 100 мл наліць 30 мл пажыўнага асяроддзя, заразіць яго глебай і паставіць у тэрмастат пры 25–

30°C. Для выяўлення аміяку, які вылучаецца ў атмасферу, пад ватавы корак падвесіць чырвоную лакмусавую паперку, змочаную дыстыляванай вадой.

Праз 3–5 сут адзначыць афарбоўку лакмусавай паперкі. Пасіненне чырвонай лакмусавай паперкі паказвае на выдзяленне аміяку.

Выявіць назапашванне аміяку ў субстраце можна кропельнай рэакцыяй з рэактывам Неслера. Да кроплі рэактыву на фарфаравай пласцінцы дадаць кроплю субстрату. Пры наяўнасці аміяку ўтвараецца бураваты асадок.

Для вывучэння ўзбуджальнікаў аманіфікацыі мачавіны прыгатаваць з ледзь прыкметнай плёнкі на субстраце прэпарат і афарбаваць яго фуксінам. Разгледзець у мікраскоп і замаляваць клеткі *Bacillus pasteurii* (мал. 13).



Мал. 13. Аманіфіцуючыя бактэрыі (*Bacillus pasteurii*)

Абсталяванне і матэрыялы: колба на 100 мл; мерны цыліндр на 50 мл; лыжачка; палоскі чырвонай лакмусавай паперы; вата; белая фарфаравая пласцінка з лункамі; піпетка; мікраскоп; прадметнае і покрывнае шкло; асяроддзе для аманіфікацыі мачавіны (г/л дыстыляванай вады: К або Na вінакіслы – 5,0; мачавіна – 50,0; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2); глеба; рэактыў Неслера.

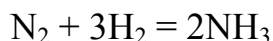
Кантрольныя пытанні. Што такое аманіфікацыя? З якіх этапаў складаецца і як адбываецца аманіфікацыя бялкоў? Якія рэчывы выдзяляюцца пры раскладанні бялкоў? Напісаць ураўненні дэзамінавання амінакіслот у аэробных і анаэробных умовах. Якія бактэрыі ажыццяўляюць аманіфікацыю ў аэробным і анаэробным асяроддзі? Назваць мікраарганізмы-аманіфікатары бялкоў. Напісаць рэакцыю аманіфікацыі мачавіны. Як у доследзе выяўляецца

аміак? Чаму змяняецца афарбоўка лакмусавай паперы? Як пад мікраскопам выглядае *Bacillus pasteurii*?

Лабараторная работа № 21 КОЛЬКАСНАЕ ЗМЯШЧЭННЕ АЗОТАБАКТЭРУ Ў ГЛЕБЕ

Агульныя палажэнні. Малекулярны азот атмасферы (78% па аб'ёме) не даступны раслінам. Толькі пры разрадах маланкі адбываецца актывацыя малекулы азоту, але пры гэтым у паветра трапляе нікчэмна малая колькасць вокіслаў азоту і аміяку, даступных раслінам.

У глебе ж падобная актывацыя ажыццяўляецца пастаянна шэрагам мікраарганізмаў, здольных «фіксаваць» (аднаўляць да аміяку) малекулярны азот паводле рэакцыі



Гэтыя мікраарганізмы дзеляцца на дзве групы: свабоднажывучыя і якія жывуць у сімбіёзе з раслінамі.

Па сучасных уяўленнях група свабоднажывучых азотафіксатараў уключае бактэрыі родаў *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Clostridium*, цыянабактэрыі родаў *Anabaena*, *Nostoc*, фотасінтэзуючыя бактэрыі родаў *Chromatium* і *Rhodospirillum*. Да бактэрыя-сімбіёнтаў належаць бактэрыі родаў *Rhizobium* і *Frankia*. У глебе найбольш распаўсюджаныя аэробныя бактэрыі з роду *Azotobacter* і анаэробныя бактэрыі з роду *Clostridium*.

Azotobacter chroococcum сустракаецца ў асноўным ва ўрадлівых глебах з нейтральнай рэакцыяй асяроддзя. Гэта злучаныя ў пары адзінкавыя кокападобныя клеткі памерам 0,3–0,7 мкм. У старой культуры вакол клетак знаходзіцца слізістая капсула, а калоніі цямнеюць да цёмна-шэрага і цёмна-карычневага колеру. Колькасць азотабактэру ў глебе з'яўляецца адным з паказчыкаў ступені яе акультуранасці. Пры дастаткова вялікай колькасці (парадку некалькі тысяч клетак у 1 г глебы) гэты від бактэрыя ажыццяўляе ў аэробных умовах звязванне да 20–100 кг/га азоту ў год і з'яўляецца самым актыўным свабоднажывучым азотафіксатарам у прыродзе. Эфектыўнасць азотафіксацыі ў яго дасягае да 20 мг азоту на 1 мг спажытага арганічнага рэчыва.

Ход работы. Узважыць 0,1 г прасеянай падыспытнай глебы і пры дапамозе пінцэта раскласці яе на паверхні пажыўнага асярод-

дзя ў чашкі Петры ў 100 камячкоў аднолькавага памеру, размяшчаючы іх правільнымі шэрагамі. Для палягчэння працы пад чашку Петры падкласці шаблон, намаляваны на міліметроўцы. Засеяныя чашкі абгарнуць паперай і, перавярнуўшы дагары нагамі, змясціць у тэрмастат пры тэмпературы 25–30°C.

Праз 2 тыдні пры наяўнасці ў глебе азотабактэру вакол камочкаў глебы з'яўляюцца калоніі бактэрыі у выглядзе слізі цёмна-шэрага і цёмна-карычневага колеру. Падлічыць колькасць камячкоў, якія ўтрымліваюць азотабактэр. Мяркуючы, што ў кожным аброслым камячку змяшчаецца адна клетка азотабактэру, разлічыць яго колькасць у 1 г глебы.

Камячкі падзолістых глеб нярэдка абрастаюць бясколернай слізю, якая складаецца з бактэрыі слабага азотафіксатару – радыебактэру або буйных шарападобных клетак, якія з'яўляюцца глебавымі дрожджамі.

Унесці невялікую колькасць слізі ў кроплю вады на прадметным шкле, пакрыць покрывным шклом і разгледзець з дапамогай мікраскопа. Клеткі азотабактэру буйныя, авальныя, часта дзеляцца і таму размешчаны парамі. Вакол клетак знаходзяцца слаба адрозныя слізістыя капсулы (мал. 14).

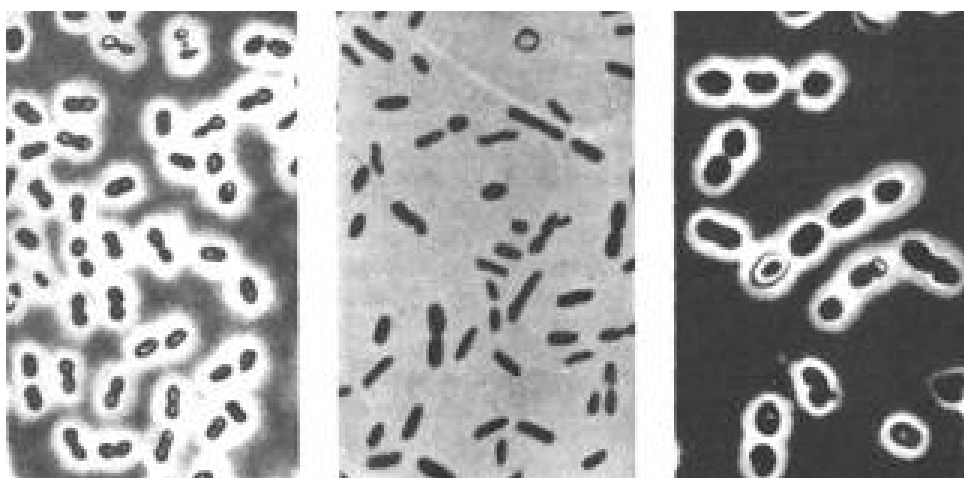


Рис. 14. Азотабактэр (*Azotobacter chroococcum*)

Вынікі доследу заносзяцца ў табліцу.

Доследны аб'ект	Агульная колькасць камячкоў глебы	Колькасць камячкоў глебы, якія змяшчаюць азотабактэр	Колькасць клетак азотабактэру ў 1 г глебы	Працэнт камячкоў, якія змяшчаюць азотабактэр

На падставе атрыманых даных робіцца заключэнне пра ступень акультуранасці доследнай глебы.

Абсталяванне і матэрыялы: мікраскоп; чашка Петры; покрыўнае і прадметнае шкло; шкляная палачка; прэпаравальная іголка; доследная глеба; агар-агар; сахароза; K_2HPO_4 ; $MgSO_4$; $CaCO_3$; папяросная папера.

Кантрольныя пытанні. Што такое «фіксацыя» азоту? Напісаць ураўненне «фіксацыі». Для чаго бактэрыі ажыццяўляюць «фіксацыю»? Якая роля «фіксацыі» азоту ў жыцці раслін? Роля азотафіксатараў у біясферы? Якую энергію выкарыстоўвае азотабактэр для аднаўлення азоту? Назваць свабоднажывучыя і сімбіятычныя азотафіксуючыя мікраарганізмы. Якія мікраарганізмы-азотафіксатары – свабоднажывучыя ці сімбіятычныя, аэробныя ці анаэробныя – маюць большую прадукцыйнасць? Прывесці лічбы прадукцыйнасці фіксацыі азоту азотабактэрам. Якія ўмовы патрабуюцца для жыццядзейнасці азотабактэру? Па якіх прыкметах выяўляюцца калоніі азотабактэру на пажыўным асяроддзі і асобныя мікраарганізмы пад мікраскопам.

6. МІНЕРАЛЬНАЕ ЖЫЎЛЕННЕ

Мінеральнае жыўленне раслін уключае працэсы паглынання і засваення мінеральных рэчываў. У раслінах змяшчаюцца амаль усе хімічныя элементы, але патрэбнасць у многіх з іх да цяперашняга часу не выяўлена. Неабходнымі і незаменнымі для вышэйшых раслін з'яўляюцца макраэlementы – N, P, S, K, Ca, Mg, Fe, мікраэlementы – Mn, Cu, Zn, Co, Mo, B і інш. Першыя неабходны ў адносна вялікай колькасці, іх змяшчэнне ў раслінах перавышае 0,01%. Мікраэlementы прысутнічаюць у раслінах у канцэнтрацыі ніжэй за 0,01%.

Паглынання мінеральных рэчываў – складаны фізіялагічны працэс, ажыццяўленне якога звязана з наяўнасцю ў раслінах спецыялізаванай структуры паглынальных органаў, функцыянаваннем асобных механізмаў пераносу іонаў і сіл іоннага транспарту. Працэс паглынання знаходзіцца ў складанай залежнасці ад глебавых і кліматычных фактараў. Веданне гэтых пытанняў неабходна для набыцця агульных звестак пра мінеральнае жыўленне раслін.

Лабараторная работа № 22 УПЛЫЎ МІНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТАЎ НА РОСТ МІЦЭЛІЯ ПЛЕСНЕВАГА ГРЫБА

Агульныя палажэнні. Вырошчванне раслін на штучных пажыўных сумесях (метад водных культур) дазваляе вывучаць многія пытанні каранёвага жыўлення раслін.

Напрыклад, выключаючы з пажыўнай сумесі які-небудзь элемент, можна даведацца, ці з'яўляецца дадзены элемент неабходным для расліны. Пры выключэнні патрэбнага элемента расліна, вычарпаўшы ўласныя запасы, рэзка скарачае рост, а затым адмірае. Адсутнасць непатрэбнага расліне элемента не ўплывае на рост.

Для кароткачасовых доследаў з воднымі культурамі зручна выкарыстоўваць плесневы грыб аспергіл (*Aspergillus niger*), які прад'яўляе да ўмоў мінеральнага жыўлення прыкладна тыя ж патрабаванні, што і вышэйшыя расліны, адрозніваючыся ад іх толькі тым, што не мае патрэбы ў калыцыі.

Ход работы. Узяць чатыры аднолькавыя колбы, прымацаваць да іх этыкеткі з указаннем варыянту і прыгатаваць у колбах пажыўныя сумесі па наступнай схеме:

Растворы	Колба, №			
	1	2	3	4
Цукроза 20%	10 мл	10 мл	10 мл	40 мл
NH ₄ NO ₃ 1,2%	10 мл	—	10 мл	—
KH ₂ PO ₄ 0,4%	10 мл	10 мл	—	—
MgSO ₄ 0,4%	10 мл	10 мл	10 мл	—
KCl 0,2%	—	—	10 мл	—
NaCl 0,8%	—	10 мл	—	—
FeSO ₄ 0,1%	2 кроплі	2 кроплі	2 кроплі	—
Цытрынавая кіслата 5%	10 мл	10 мл	10 мл	10 мл

Цытрынавая кіслата дадаецца для стварэння кіслага асяроддзя, спрыяльнага для грыбка, але перашкаджаючага развіццю іншых мікраарганізмаў. Электыўнасть асяроддзя вызвае ад неабходнасці стэрылізацыі раствораў.

Пасля падрыхтоўкі пажыўных сумесяў зрабіць пасеў грыбка. Для гэтага з колбы з чыстай культурай грыба захапіць мікрабіялагічнай пятлёй, праведзенай праз полымя спіртоўкі, кавалачак міцэлію або споры і перанесці ў прабірку са стэрыльнай вадой, а пакінуты на пятлі матэрыял спаліць у полымі спіртоўкі. Змяшаць змесціва прабіркі, круцячы яе паміж далонямі. Атрыманую завісь унесці ва ўсе колбы ў аднолькавай колькасці. Закрыць колбы ватавымі коркамі, асцярожна ўзбоўтаць, не змочваючы коркаў, і паставіць у тэрмастат пры тэмпературы 30–35°C.

Праз тыдзень адзначыць стан культуры: памер і характар міцэлію, споранашэнне і г. д.

Вызначыць вагу міцэлію, для чаго ўкласці ў лейку папяровы фільтр, намачыць яго вадой, устаіць варонку ў шклянку і ўзважыць шклянку разам з лейкай і фільтрам. Пераставіць лейку ў іншую шклянку або колбу, перанесці на фільтр міцэлій грыба, прамыць яго 2–3 разы вадой і пасля поўнага сцякання вады ўстаіць варонку ў першую шклянку і ўзважыць. Па рознасці паміж вынікамі другога і першага ўзважванняў вызначыць вагу міцэлію.

Вынікі запісаць у табліцу па форме:

Варыянт вопыту	Стан культуры	Маса міцэлію, г
Поўная сумесь		
Без азоту		
Без фосфару		
Без мінеральных рэчываў		

Зрабіць вывады пра тое, ці з'яўляюцца фосфар, азот і натрый абсалютна неабходнымі элементамі, як рэагуе расліна на выключэнне хаця аднаго з неабходных элементаў, ці можна замяніць адзін неабходны элемент на іншы.

Абсталяванне і матэрыялі: колбы з ватавымі коркамі на 150 мл (4 шт.); піпеткі на 10 мл (7 шт.); тэрмастат; спіртоўка; мікрабіялагічная пятля са шкляной дзяржальняй; прабірка; запалкі; чыстая культура грыба *Aspergillus niger*; растворы, прыгатаваныя на дыстыляванай вадзе: сахароза – 20%; NH_4NO_3 – 1,2%; KH_2PO_4 – 0,4%; MgSO_4 – 0,4%; KCl – 0,2%; NaCl – 0,8%; FeSO_4 – 0,1% у кропельніцы; цытрынавая кіслата – 0,5%.

Кантрольныя пытанні. Сфармулюйце правілы і закон «мінімуму» Ю. Лібіха. Назавіце макра-і мікраэлементы і вызначце ролю кожнага макраэлемента. У якой колькасці ўтрымліваюцца ў расліне макра-і мікраэлементы? Чаму выключаныя з пажыўнай сумесі макраэлементы робяць неаднолькавы ўплыў на расліны? Чаму маса міцэлію ў кантролі большая, чым у іншых варыянтах доследу? Ці аднолькавае ўздзеянне ўмоў мінеральнага жыўлення на рост міцэлію? Ці можна замяніць калій на натрый?

Лабараторная работа № 23

АГУЛЬНАЯ І РАБОЧАЯ АДСАРБАВАЛЬНЫЯ

ПАВЕРХНІ КАРАНЁВАЙ СІСТЭМЫ

(паводле Д. А. Сабініна і І. І. Коласава)

Агульныя палажэнні. Адсорбцыя іонаў каранёвай сістэмай з'яўляецца першым этапам паглынання раслінай элементаў мінеральнага жыўлення. Іоны пранікаюць унутр караня да эндадэрмы па міжклетніках і клетачных абалонках, якія ўтвараюць *свабодную прастору*, альбо *апапласт*. Абалонкі клетак добра пранікальныя для іонаў дзякуючы порыстай структуры. Клеткі эндадэрмы з суберынавымі паяскамі Каспары з'яўляюцца перашкодай для іх далейшага руху. Іоны, якія трапілі ў апапласт рызадэрмы і парэнхімы кары, адсарбуюцца на структурных элементах (макрамалекулах, міцэлах, мікрафібрах) клетачных абалонак. Адсорбцыя носіць абменны характар. Пажыўныя рэчывы абменьваюцца на адсарбаваныя клетачнай абалонкай іншыя іоны, напрыклад H^+ і HCO_3^- , якія выдзяляюцца клеткамі пры дыханні. У гэтым працэсе ўдзельнічаюць толькі мерыстэматычная зона і зона каранёвых валаскоў, дзе карань мае першасную будову і жывую пакрыўную тканку – рызадэрму.

На другім этапе адсарбавання паблізу памежнай мембраны плазмалемы іоны пераносяцца праз яе ўнутр клетак. Адсарбавальная паверхня, з якой адбываецца паглыннанне іонаў пратапластам, называецца *рабочай адсарбавальнай паверхняй*. Уся паверхня караня, на якой адсарбуюцца пажыўныя рэчывы, носіць назву *агульнай адсарбавальнай паверхні*.

Для вызначэння адсарбавальнай паверхні караня выкарыстоўваецца бяшкродны фарбавальнік – метыленавы сіні, у якога афарбаваным з’яўляецца катыён. Малекулы аднаго міліграма фарбы, размешчаныя ў адзін слой, пакрываюць паверхню ў $1,05 \text{ м}^2$. Вызначыўшы колькасць адсарбаванага каранямі фарбавальніка ў міліграмах, можна разлічыць паглынальную паверхню. Пры гэтым дапускаецца, што катыёны пры поўнай насычанасці паверхні размяшчаюцца ў адзін слой.

Ход работы. Наліць у тры шклянкі па 5–10 мл 0,0003 М раствору метыленавага сіняга (МС). Аб’ём раствору павінен быць прыблізна ў 10 разоў большы за аб’ём каранёвай сістэмы. У чацвёртую шклянку наліць на трэць 0,2 М раствор CaCl_2 .

Карані акуратна абмыць вадой, злёгка абсушыць фільтравальнай паперай і паслядоўна апусціць у кожную з трох шклянак на 1,5 хвіл. Перад апусканнем каранёў у чарговую шклянку даць магчымасць сцячы лішку раствору сіняга на працягу каля 5 с. Адпаведна паменшыць час знаходжання каранёў у папярэдняй шклянцы. Карані, якія дасталі з трэцяй шклянкі, прамыць вадой і змясціць у шклянку з CaCl_2 . Назіраць, як у працэсе абменнай адсорбцыі катыёны выдзяляюцца ў раствор.

Развесці зыходны і доследныя растворы МС у 10 разоў. Для гэтага перанесці піпеткай 1 мл раствору ў мерны цыліндр на 10 мл і дадаць вады да меткі. Вызначыць аптычную шчыльнасць разбаўленых раствораў на ФЭК у пры чырвоным святлафільтры. Перад кожным вызначэннем устанаўліваць прыбор на нуль, кювету прамываць рабочым раствором. Па калібровачнай крывой знайсці канцэнтрацыю раствораў і падлічыць змяшчэнне МС у шклянках.

Вынікі вымярэння запісаць у табліцу па наступнай форме:

Нумар шклянкі	Аб’ём раствору ў шклянцы, мл	Аптычная шчыльнасць раствору	Канцэнтрацыя раствору, мг/л	Колькасць МС у шклянцы, мг
1				
2				
3				
Зыходны раствор МС				

Устаноўлена, што за першыя 3 хвіл мае месца адсарбцыйнае насычэнне ўсёй паверхні каранёў. У наступныя 1,5 хвіл МС паглынаецца толькі рабочай адсарбавальнай паверхняй у сувязі з паглыннаннем фарбавальніка пратапластамі клетак. Вывідаючы колькасць МС, паглынутаю ў дадзены адрэзкі часу, разлічыць агульную, рабочую і нядзейную адсарбавальную паверхні. Падзяліць атрыманыя вынікі на масу сырых каранёў і разлічыць удзельную паглынальную паверхню.

Вынікі доследу запісаць у табліцу па прыведзенай ніжэй форме:

Нумар шклянкі	Паглы- нута МС, мг	Адсарбавальная паверхня, м ²			Маса кара- нёў, г	Удзельная адсарбавальная паверхня, м ² /г		
		агуль- ная	рабо- чая	нядзей- ная		агуль- ная	рабо- чая	нядзей- ная
1								
2								
3								

Параўнаць атрыманыя вынікі, зрабіць вывады пра суадносіны агульнай і рабочай адсарбавальных паверхняў. Растлумачыць прычыну змянення афарбоўкі раствору CaCl_2 .

Абсталяванне і матэрыялы: шклянкі ёмістасцю 25–50 мл (4 шт.); ФЭК; калібровачная крывая на МС у межах канцэнтрацый 1–12 мг/л; вагі; піпеткі на 1 і 10 мл; мерны цыліндр на 10 мл; фільтравальная папера; 0,0003 М раствор метыленавага сіняга; 0,2 М раствор CaCl_2 ; 10–14-дзённыя праросткі раслін.

Кантрольныя пытанні. З якіх этапаў складаецца паглыннанне іонаў каранямі раслін? Што ёсць свабодная прастора караня? Што ёсць апапласт? Да якой мяжы пранікаюць іоны ў карань? Якія зоны караня і чаму ажыццяўляюць паглыннанне іонаў? Абалонкі клетак якіх тканак караня адсарбуюць іоны? Чаму эндадэрма з'яўляецца бар'ерам для іонаў? Што ёсць паяскі Каспары? Якая паверхня з'яўляецца рабочай адсарбавальнай паверхняй, якая – нядзейнай, агульнай? Як карань абменьваецца іонамі з пажыўным растворам? Чаму ўдзельная адсарбавальная паверхня дасягае вялікіх размераў? Прынцып вызначэння агульнай і рабочай адсарбавальных паверхняў караня.

Лабараторная работа № 24

ПАГЛЫНАННЕ КАРАНЯМІ ІОНАЎ АМОНІЮ Ў РОЗНЫХ УМОВАХ КІСЛОТНАСЦІ І ТЭМПЕРАТУРЫ

Агульныя палажэнні. Паглыннанне мінеральных рэчываў (перанос праз плазмалему ў клетку) забяспечваецца пасіўным і актыўным механізмамі. У першым выпадку іоны перамяшчаюцца ў клетку па градыенце канцэнтрацыі (звычайна пры канцэнтрацыі солей больш за 1мМ), у другім (пры меншых канцэнтрацыях, што звычайна назіраецца ў глебавым раствору) – за кошт энергіі працэсу дыхання. У значнай ступені залежыць ад метабалічнай энергіі паглыннанне іонаў калію, амонію, нітрату, фасфату, сульфату. Большасць двух-, трохвалентных катыёнаў паглынаецца пасіўна нават пры канцэнтрацыях менш за 10^{-3} М.

Энергазалежнае паглыннанне цесна звязана з дыханнем каранёў, таму фактары, якія ўплываюць на дыханне (тэмпература, аэрацыя, забяспечанасць асімілятамі, інгібітары), уздзеінічаюць і на працэсы паглынання. Паглыннанне залежыць таксама ад рН пажыўнага раствору, які вызначае ўласцівасці клетачных мембран.

Ход работы. Прыгатаваць рабочую пажыўную сумесь наступнага саставу, г/л: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 0,100; KH_2PO_4 – 0,025; MgSO_4 – 0,012; NH_4NO_3 – 0,010; KCl – 0,017. Для гэтага ўліць у колбу на 500 мл па аднаму мілілітру раствораў зыходных рэчываў, канцэнтрацыя якіх у 1000 разоў перавышае рабочую, і давесці дыстыляванай вадой да меткі. Далей выконваецца адзін з наступных доследаў.

Дослед 1. Уплыў кіслотнасці раствору на паглыннанне іонаў.

Рабочы раствор разліць пароўну ў дзве шклянкі. Вызначыць рН-метрам кіслотнасць сумесі. Давесці рН у адной шклянцы да 5,0, у другой – да 6,8, дадаючы ў раствор па кроплях кіслату ці шчолач.

У дзве шклянкі ёмістасцю 100 мл уліць па 50 мл атрыманых раствораў. Злучыць у пучкі па 10 раслін, прамыць карані дыстыляванай вадой і высушыць фільтравальнай паперай. Апусціць карані ў растворы такім чынам, каб насенне не трапіла ў раствор. Шклянкі з раслінамі ўзважыць і паставіць на святло на 50–60 хвіл.

Пасля заканчэння экспазіцыі шклянкі зноў ўзважыць і давесці масу да першапачатковай, дадаючы ў пажыўны раствор па кроплях вадy. Расліны дастаць, карані абсушыць фільтравальнай паперай, адрэзаць і ўзважыць.

Вызначыць з дапамогай іонаметра канцэнтрацыю аманійнага азоту ў зыходным і доследных растворах. Разлічыць паглыннанне NH_4^+ на 1 г сырой масы каранёў за гадзіну.

Дослед 2. Уплыў тэмпературы на паглыннанне іонаў.

Дослед праводзіцца пры тэмпературы пажыўнага раствору 20 і 10°C. Для гэтага адзін з раствораў папярэдне ахаладзіць. Кіслотнасць раствораў давесці да 6,8. Для падтрымання паніжанай тэмпературы на працягу доследу шклянку з раслінай устаіць у вадзе, у якую дадаць лёд. У астатнім парадак работы такі ж, як і ў доследзе 1.

Вынікі занесці ў табліцу па наступнай форме:

Варыянт доследу	Канцэн- трацыя раствору, мг/л	Змяшчэнне NH_4^+ у 50 мл пажыўнай сумесі, мкг	Паглынута амонію каранямі, мкг	Працяг- ласць доследу, гадз	Маса кара- нёў, г	Паглы- нута амонію, мкг/ (г·гадз)
РН 5,0						
РН 6,8						

Зрабіць вывады пра ўплыў кіслотнасці і тэмпературы на паглыннанне іонаў каранямі. Растлумачыць механізм уздзеяння гэтых фактараў на паглыннанне.

Абсталяванне і матэрыялы: колба на 500 мл; піпеткі на 1 мл (6 шт.); шклянкі на 250 мл (2 шт.); на 100 мл (2 шт.); вагі; іонаметр з H^+ - і NH_4^+ -селектыўнымі электродамі; тэрмометр; скальпель; фільтравальная папера; растворы, г/л: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 100; KH_2PO_4 – 25; MgSO_4 – 12; NH_4NO_3 – 10; KCl – 17; 10–20-дзённыя расліны, вырашчаныя на пажыўнай сумесі Кнопа, разбаўленай у 10 разоў, і вытрыманыя суткі на водаправоднай вадзе.

Кантрольныя пытанні. Як адбываецца паглыннанне іонаў пратапластам клеткі? Чым адрозніваецца пасіўнае паглыннанне ад актыўнага? За кошт якой энергіі паглынаюцца іоны? Чаму пры канцэнтрацыі іонаў больш за 1 мМ адбываецца пасіўнае паглыннанне? Якія іоны паглынаюцца пераважна пасіўна, якія актыўна? Як уплывае на працэс паглыннання тэмпература, аэрацыя, забяспечанасць асімілятамі? Чаму пры ўздзеянні на карані дынітрафенолам, які парушае акісляльнае фасфарыляванне, хуткасць актыўнага паглыннання зніжаецца? Якім чынам уплывае на паглыннанне іонаў кіслотнасць глебавага раствору? Пакажыце, як звязана паглыннанне іонаў з асветленасцю расліны.

7. ПЕРАТВАРЭННЕ ЗАПАСНЫХ АРГАНІЧНЫХ РЭЧЫВАЎ

Прадукты фотасінтэзу (асіміляты) транспартуюцца па флаэме ў форме растваральных вугляводаў ва ўсе органы расліны. Там яны спажываюцца ў працэсе дыхання для атрымання энергіі для сінтэзу разнастайных арганічных злучэнняў, адкладваюцца ў запас.

Сінтэзуемыя ў раслінах арганічныя злучэнні дзеляць на рэчывы першаснага і другаснага абмену. Да рэчываў *першаснага абмену* адносяць бялкі, нуклеінавыя кіслоты, вугляводы і ліпіды. Яны сустракаюцца ў кожнай клетцы кожнай расліны, пастаянна ўдзельнічаюць у метабалізме, падвяргаюцца складаным, часта ўзаемным ператварэнням. Рэчывы *другаснага абмену* – гэта спецыфічныя злучэнні, якія сустракаюцца не ва ўсіх раслін і не маюць істотнага значэння ў асноўным абмене рэчываў і ператварэнні энергіі. Яны выконваюць функцыі аховы раслін ад шкоднікаў і хвароб, прываблівання насякомых, павышэння механічнай функцыі тканак і г. д. Большасць гэтых рэчываў няздольныя да транспартавання. Найбольш характэрнымі з іх з’яўляюцца тэрпеноіды (эфірныя алеі), алкалоіды, гліказіды, фенольныя злучэнні, у тым ліку дубільныя рэчывы і лігнін.

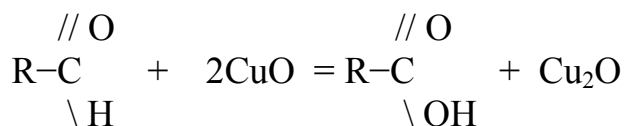
Лабараторная работа № 25 АСНОЎНЫЯ ЗАПАСНЫЯ РЭЧЫВЫ ДРЭВАВЫХ РАСЛІН І ІХ ПЕРАТВАРЭННІ Ў ЗІМОВЫ ПЕРЫЯД

Агульныя палажэнні. У якасці запасных рэчываў выкарыстоўваюцца пераважна вугляводы, алеі і бялкі. Яны адкладваюцца ў жывых клетках вегетатыўных органаў, насення, караняплодаў, клубняў і інш. Вугляводы знаходзяцца ў трох формах: манамернай (глюкоза, фруктоза і інш.), дыцукрознай (цукроза, мальтоза і інш.) і поліцукрознай (крухмал).

У дрэвавых раслін з ранняй восені пачынае назапашвацца крухмал, які з наступленнем маразоў ператвараецца ў цукры і алей. Растварымыя злучэнні, а таксама алей павышаюць устойлівасць клетак да нізкіх адмоўных тэмператур. Вясной адбываецца мабілізацыя запасных рэчываў, для чаго яны ператвараюцца ў растваральныя формы і транспартуюцца да пунктаў росту. Перад распусканнем дрэў у пупышках, у тонкіх парастках, а ў хваёвых

таксама і ў ігліцы назіраецца назапашванне крухмалу, азотзмяшчальных рэчываў, якія потым паступова расходуюцца ў працэсе росту. Такім чынам, адбываецца ўзаемаператварэнне адных арганічных рэчываў у іншыя.

Для выяўлення крухмалу праводзіцца якасная рэакцыя на J. Кроплі алею выяўляюцца шляхам афарбоўвання фарбавальнікамі Судан-III і разглядаюцца пад мікраскопам. З растваральных вугляводаў вызначаюцца толькі рэдуцыруючыя цукры. Да іх адносяцца монацукры – альдозы і кетозы (глюкоза, фруктоза), а таксама дыцукры, у якіх монацукры злучаны не праз альдэгідную групу (мальтозу). Рэдуцыруючыя цукры валодаюць аднаўляльнымі ўласцівасцямі. Гэтыя цукры выяўляюцца з дапамогай рэактыву Фелінга, у склад якога ўваходзяць CuSO_4 і сегнетава соль (гл. дадатак). Вокісная медзь рэактыву аднаўляецца рэдуцыруючымі цукрамі да закiснай і выпадае ў выглядзе асадку цагляна-чырвонага колеру:



Ход работы. У парасткаў дрэвавых раслін, зафіксаваных спіртамі ў розны час года, выдаліць ніжнюю частку каля 5 см, з клетак якой спіртамі вымываюцца некаторыя рэчывы. Правесці мікрахімічныя рэакцыі для выяўлення крухмалу, алею і рэдуцыруючых цукраў.

Для выяўлення крухмалу прыгатаваць пры дапамозе брытвы тонкі папярочны зрэз сцябла, які ўключае асяродак, драўніну і кару. Змясціць зрэз на прадметнае шкло ў кроплю раствору ёду ў KJ, закрыць пакрыўным шклом і разгледзець у мікраскоп спачатку пры малым, а затым пры большым павелічэнні. Крухмальныя зярняты афарбоўваюцца ў сіні колер, і буйныя зярняты здаюцца амаль чорнымі.

Для выяўлення алею змясціць тонкі зрэз ў кроплю раствору фарбы Судан-III і закрыць пакрыўным шклом. Вытрымаўшы зрэз ў раствору фарбы не менш за 10 хвіл, прамыць яго вадой, усмоктаваючы раствор фільтравальнай паперай, і змясціць зрэз ў кроплю гліцэрыны. Разгледзець у мікраскоп пры вялікім павелічэнні асяродак, асяродкавыя прамяні, драўнінную парэнхіму і луб. Кроплі алею афарбоўваюцца ў аранжавы або чырвоны колер.

Для выяўлення рэдуцыруючых цукраў адрэзак парасткаў даўжынёй у некалькі сантыметраў разрэзаць уздоўж і пагрузіць у

канцэнтраваны раствор CuSO_4 на 5 хвіл. Затым прамыць яго вадой, пакласці ў прабірку з кіпячым шчолачным раствором сегнетавай солі і кіпяціць 2 хвіл. Апрацаваныя такім чынам кавалачкі прамыць вадой, зрабіць тонкія зрэзы і разгледзець у мікраскоп у кроплі гліцэрыны. Крышталі Cu_2O пры малым павелічэнні здаюцца чорнымі, а пры вялікім – маюць чырвонае адценне.

Пры вызначэнні цукраў больш простым метадам не вельмі тонкі зрэз парасткаў змясціць на прадметнае шкло ў вялікую кроплю фелінгавай вадкасці і нагрэць на спіртоўцы да кіпення. Шкло пры гэтым утрымліваецца пінцэтам. Асадак Cu_2O , які ўтрымліваецца, размяркоўваецца па ўсім прэпараце, што не дае магчымасці меркаваць пра колькасць цукраў ў асобных тканках.

Запісаць вынікі доследаў у табліцу:

Расліна	Час узяцця парасткаў	Утрыманне запасных рэчываў у парастках дрэвавых раслін (+ ці –)		
		крухмал	алей	цукар
	Восень			
	Зіма			

Зрабіць вывады пра ўтрыманне запасных рэчываў у парастках, нарыхтаваных у розны час. Адзначыць, у якіх тканках і ў якой колькасці (па пяцібальнай шкале) выяўлены тыя ці іншыя запасныя рэчывы.

Абсталяванне і матэрыялы: мікраскоп; прадметнае і покрывнае шкло; лязо брытвы; пінцэт; скальпель; спіртоўка; прэпаравальная іголка; штатыў з прабіркамі (2 шт.); шкляная палачка; шклянка з вадой; кавалачкі фільтравальнай паперы; запалкі; парасткі дуба і ліпы, зрэзаныя ў верасні і ў студзені і зафіксаваныя ў парах спірту (змяшчаюцца ў вертыкальным становішчы ў шчыльна зачыненыя банкі, у якія наліваецца 50 мл 96%-нага спірту); раствор J ў KJ ў кропельніцы (канцэнтраваны раствор, разведзены ў 3 разы); раствор фарбы Судан-III у кропельніцы (10 мг Судан-III у 5 мл спірту і 5 мл гліцэрыны); насычаны раствор CuSO_4 ; шчолачны раствор сегнетавай солі (86,5 г сегнетавай солі і 60 г NaOH ў 100 мл вады); фелінгавая вадкасць; гліцэрына.

Кантрольныя пытанні. Якую ролю ў расліннай клетцы выконваюць бялкі, вугляводы і алей? У якой форме назапашваюцца вугляводы? Чаму ў большасці раслін пераважна запасным рэчывам з’яўляецца алей? На чым заснавана рэакцыя выяўлення

монацукраў з дапамогай рэактыву Фелінга? Чаму дыцукры нельга непасрэдна выявіць з дапамогай гэтага рэактыву? Дзе ў дрэвавых раслінах напашваюцца запасныя рэчывы? Як і чаму ўзаемаператвараюцца ў дрэвавых раслінах запасныя рэчывы на працягу года? У які час года парасткі дрэвавых раслін утрымліваюць максімальную колькасць крухмалу? Якая з даследуемых дрэвавых парод больш змяшчае цукраў, якая – алею? Якія рэчывы называюцца першаснымі, якія – другаснымі? Роля рэчываў першаснага і другаснага абмену.

Лабораторная работа № 26 ПЕРАТВАРЭННЕ ЗАПАСНЫХ РЭЧЫВАЎ ПРЫ ПРАРАСТАННІ НАСЕННЯ

Агульныя палажэнні. У якасці запасных рэчываў насенне змяшчае вугляводы, алеі і бялкі. У залежнасці ад формы запасных рэчываў насенне падзяляецца на *крухмалістае* (злакавыя і зернебабовыя расліны, каштан, акацыя, дуб) і *алеістае* (каноплі, лён, сланечнік, кедр, хвоя, елка, піхта, ліпа, арэшнік, бук і інш.).

Пры прарастанні насення запасныя рэчывы ператвараюцца з нерастваральнай у растваральную форму і спажываюцца для жыўлення зародка. Пад уздзеяннем ферментаў крухмал расшчапляецца да растваральных вугляводаў (гл. лаб. работу № 27). Бялкі гідралізуюцца спачатку *пратэазамі* да поліпептыдаў, потым *пептыдаза-мі* да амінакіслот. Апошнія выкарыстоўваюцца для сінтэзу новых бялкоў альбо дэзамінуюцца з утварэннем арганічных кіслот і аміяку. У мабілізацыі запаснага алею на першым этапе прымае ўдзел фермент *ліпаза*. Пад яго ўздзеяннем алеі расшчапляюцца да гліцэрыны і тлустых кіслот. Гліцэрына фасфарылюецца з утварэннем трыёзафасфатаў і ператвараецца ў цукар. Тлустыя кіслоты акісляюцца да ацэтыл-КаА (β -акісленне), які трапляе ў цыкл ды-, трыкарбонавых кіслот (цыкл Крэбса) працэсу дыхання альбо ўключаецца ў гліяксалатны цыкл і шэраг далейшых рэакцый з утварэннем фосфаенолпіравінаграднай кіслаты. Апошняя праз адваротны гліколіз ператвараецца ў вугляводы.

Зазначаныя ператварэнні можна паказаць пры параўнанні змесціва рэчываў прарослага і непрарослага насення. Прарошчванне праводзіцца ў цемнаце для таго, каб выключыць утварэнне новых рэчываў у працэсе фотасінтэзу. У якасці індикатара на

крухмал выкарыстоўваецца раствор ёду ў KI, на алей – раствор Судану-III, а на растваральныя цукры – раствор Фелінга, які рэагуе з растваральнымі цукрамі з утварэннем асадку закiсу медзі чырвона-бурага колеру (гл. лаб. работу № 25).

Ход работы. Расцерці ў ступцы па 0,5–1,0 г прараслага і непараслага крухмалістага (дуб, пшаніца) і алеістага (хвоя, сланечнік) насення. Перанесці масу ў чатыры прабіркi з этыкеткамі, дадаць 5 мл вады і паставіць прабіркi ў вадзяную грэлку на некалькі хвілін для экстракцыі растваральных цукраў. Прабіркi перыядычна ўстрэсваць. Змесціва прабірак нельга даводзіць да кіпення, каб пазбегнуць утварэння клейстара з крухмалу насення.

Перанесці суспензіі ў цэнтрыфугавыя прабіркi і цэнтрыфугаваць 3–5 хвіл пры 2,5–3 тыс. абаротаў (цэнтрыфугаванне можна замяніць фільтраваннем). Надасадкавую вадкасць перанесці піпеткай у чыстую прабірку, даліць аднолькавую па аб’ёме колькасць Фелінгавай вадкасці і вытрымаць на вадзяной грэлцы пры тэмпературы 100°C 5 хвіл. У выніку гэтага ў прабіркi з растваральнымі цукрамі з’яўляецца асадак закiсу медзі чырвона-бурага колеру, па інтэнсіўнасці якога мяркуюць пра іх змяшчэнне ў доследным насенні.

Да асадку, які застаўся пасля атрымання растваральных цукраў, дадаць раствор ёду і па афарбоўцы (гл. лаб. работу № 27) ацаніць змяшчэнне крухмалу ці дэкстрынаў у прарослым і непарослым насенні.

Зрабіць тонкія зрэзы прараслага і непараслага насення, якое ў якасці запасных рэчываў змяшчае алеі. Зрэзы пакласці на прадметнае шкло ў кроплі раствору Судану-III і накрыць покрывным шклом. Праз 5 хвіл прамыць зрэзы вадой, для чаго ўводзіць пад шкло па кроплях ваду і адсмоктаць яе фільтравальнай паперай. Разгледзець зрэзы пад мікраскопам. Даць ацэнку змяшчэння алею па колькасці і размерах кропляў, афарбаваных у чырвоны альбо аранжавы колер.

Для вызначэння ступені дэструкцыі крухмальных зярнят разрэзаць семя ўздоўж, прэпаравальнай іголкай узяць крупінку эндасперму паблізу зародка і расцерці ў кроплі вады на прадметным шкле. Разгледзець пры вялікім павелічэнні і замалюваць крухмальнае зерне. У прараслага насення яно будзе знаходзіцца на розных стадыях разбурэння.

Вынікі даследавання занесці ў табліцу па наступнай форме:

Від раслі-ны	Стан насення	Ацэнка змяшчэння запасных рэчываў (балы)			Група насення па пераважным відзе запасных рэчываў
		алей	крухмал	рэдукаваль-ныя цукры	
	Непрарослае				
	Прарослае				

Зрабіць вывады пра характар запасных рэчываў у даследава-ным насенні і іх ператварэнне пры яго прарастанні. Складзі схему ператварэння крухмалу і алею ў цукар.

Абсталяванне і матэрыялы: ступкі з песцікамі (2 шт.); ва-дзяная грэлка; прабірка (8 шт.); скальпель; лязо бяспечнай брытвы; прэпаравальная іголка; шкляная палачка; мікраскоп; прадметнае і покрыўнае шкло; лейкі (2 шт.); цэнтрыфуга; піпеткі на 5 мл (4 шт.); мерны цыліндр на 25 мл; фільтравальная папера; рэактыў Фелінга; Судан-III; раствор 0,3%-нага ёду ў KI, разбаўлены ў тры разы; прарослае і непрарослае насенне.

Кантрольныя пытанні. Якія запасныя рэчывы змяшчае насенне? Якая роля запасных рэчываў насення? Паказаць пахо-джанне запасных рэчываў насення. Чаму ў насенні ў якасці запас-ных рэчываў не назапашваюцца растваральныя вугляводы? Што адбываецца з запаснымі рэчывамі пры прарастанні насення? Пака-заць шляхі ператварэння ў цукры крухмалу; алею. Што адбываец-ца з бялкамі пры прарастанні насення? Якія ферменты ўдзельні-чаюць у працэсах гідролізу бялкоў; алею; крухмалу? На якія групы раздзяляецца насенне па форме запасных рэчываў?

Лабараторная работа № 27 ГІДРОЛІЗ КРУХМАЛУ АМІЛАЗАЙ

Агульныя палажэнні. Крухмал з'яўляецца формай назапаш-вання вугляводаў. Пры ўжыванні запаснога крухмалу ажыццяўля-ецца яго ферментатыўнае расшчапленне на больш простыя злучэн-ні. У працэсе прарастання насення крухмал падлягае *гідролізу* і *фасфаролізу*. Гідроліз адбываецца пад уплывам гідралітычных ферментаў, сярод якіх у насенні, якое прарастае, значную ролю адыгрывае α -амілаза і β -амілаза. Фасфароліз забяспечваецца фер-ментам *глюканфасфарылазай*. Гэта працэс расшчаплення крухма-лу з утварэннем фасфарыляванай глюкозы. У фасфаролізе выка-рыстоўваецца фосфарная кіслата; у гідролізе – вада.

Амілазы адрозніваюцца па характары дзеяння. Пад уплывам α -амілазы ўтвараюцца часцей за ўсё *дэкстрыны* – рэшткі малекул крухмалу з рознай малекулярнай масай; якія даюць розную афарбоўку з ёдам. β -Амілаза прыводзіць да ўтварэння вялікай колькасці *мальтозы* (дыцукрыду, складзенага з рэшткаў глюкозы). Поўны гідроліз крухмалу ажыццяўляецца пры сумесным дзеянні абодвух ферментаў. Працэс гідролізу адбываецца паступова з утварэннем спачатку высокамалекулярных, а затым нізкамалекулярных дэкстрынаў і мальтозы: крухмал (афарбоўваецца ёдам у сіні колер) \Rightarrow \Rightarrow аміладэкстрыны (фіялетава-сіняя афарбоўка з ёдам) \Rightarrow эрытрадэкстрыны (буравата-чырвоная афарбоўка з ёдам) \Rightarrow охрадэкстрыны (чырвоная-жоўтая альбо аранжавая афарбоўка з ёдам) \Rightarrow мальтозадэкстрыны (з ёдам няма афарбоўкі) \Rightarrow мальтоза. Гідроліз мальтозы ажыццяўляецца мальтазай.

Мэта работы – вывучыць працэс гідролізу крухмалу амілазай і хуткасць утварэння прамежкавых прадуктаў (дэкстрынаў) пры розных тэмпературах (15 і 45°C).

Ход работы. Наліць у 14 прабірак па 5 мл слабага раствору ёду ў ёдзістым каліі і расставіць іх у два рады ў штатыве.

Наліць у дзве прабіркі па 5 мл 3%-нага крухмальнага клейстэру і па 1 мл соладу (выцяжкі ферменту), патрэсці і неадкладна ўзяць піпеткай з гэтых прабірак па 0,5 мл сумесі. Унесці сумесь у першую пару прабірак з растворам ёду, пасля чаго адну прабірку з крухмалам і соладавай выцяжкай паставіць на вадзяную грэлку (45°C), а другую – у штатыў пры пакаёвай тэмпературы.

Праз 2–3 хвіл уліць па 0,5 мл сумесі ў другую пару прабірак з растворам ёду, затым праз такі ж інтэрвал часу – у трэцюю пару і г. д. Адзначыць афарбоўку раствору. Інтэрвал паміж узяццем проб падбіраецца ў залежнасці ад актыўнасці ферменту і павінен быць такім, каб можна было зафіксаваць па афарбоўцы раствораў утварэнне ўсіх прамежкавых прадуктаў гідролізу крухмалу. Пробы з дзвюх прабірак павінны брацца адначасова. Колькасць прабірак з ёдам пры неабходнасці павялічваецца.

Вынікі запісаць у табліцу, указваючы ў адпаведнай графе афарбоўку раствору ёду і назву дэкстрыну.

Тэмпература	Афарбоўка раствору і прадукт гідролізу праз інтэрвал часу, хвіл							
	0	2	4	і г. д.				
+15°C								
+45°C								

Зрабіць вывад пра ператварэнне крухмалу пад уздзеяннем амілазы і ўплыў тэмпературы на актыўнасць ферменту.

Абсталяванне і матэрыялы: прабіркі ў штатыве (16 шт.); мерны цыліндр на 10 мл (2 шт.); піпеткі на 5 мл (3 шт.); вадзяная грэлка; слабы раствор ёду ў KI (20 мл канцэнтраванага раствору разбавіць да 1 л); 3%-ны раствор крухмалу; выцяжка ферменту (солад).

Кантрольныя пытанні. Чаму пры прарастанні насення крухмал ператвараецца ў цукар? Паказаць шлях ператварэння крухмалу ў цукар. Якія ферменты ўдзельнічаюць у працэсах гідролізу крухмалу; фасфаролізу крухмалу? Чым адрозніваецца гідроліз ад фасфаролізу? Які фермент удзельнічае ў працэсе гідролізу мальтозы? Чым адрозніваецца дзейнасць α - і β -амілаз? Якую функцыю выконвае мальтаза? Назваць прамежкавыя і канчатковыя прадукты гідролізу крухмалу. Што такое солад? Як атрымаць солад? Як выявіць прадукты гідролізу крухмалу?

8. АНТАГЕНЕЗ РАСЛІН

Антагенез расліны (жыццёвы цыкл, ці індывідуальнае развіццё) – гэта сукупнасць яе структурных і функцыянальных ператварэнняў ад зараджэння (зіготы, вегетатыўнага зачатка) да натуральнай смерці.

У антагенезе адбываецца рост і развіццё расліны. *Рост* ёсць працэс новаўтварэння элементаў структуры расліны (клетак, тканак, органаў), які суправаджаецца незваротным павелічэннем яе размераў і масы. Рост характарызуе колькасныя змяненні ў арганізме. Адначасова з ростам адбываецца *развіццё* – якасныя змяненні структуры і функцый расліны і яе асобных частак – клетак, тканак, органаў, якія ўзнікаюць у працэсе антагенезу. Дадзеныя працэсы суправаджаюцца *інтэграцый* частак арганізма ў цэласную жывую сістэму.

У антагенезе рэалізуецца спадчынная праграма, якая вызначае агульны накірунак фарміравання расліны. Канкрэтнае ажыццяўленне гэтага працэсу ў большай ці меншай ступені (але ў межах спадчынна замацаванай нормы рэакцыі) залежыць ад уздзеяння знешняга асяроддзя.

Ход развіцця рэгулюецца *фітагармонамі* – рэчывамі арганічнай прыроды, якія выпрацоўваюцца ў неспецыялізаваных тканках, распаўсюджваюцца па расліне і дзейнічаюць у вельмі малых колькасцях. Да фітагармонаў адносяцца *стымулятары* – аўксіны, гіберэліны, цытакініны і *інгібітары* – абсцызавая кіслата і этилен.

Лабараторная работа № 28 ЗАКАНАМЕРНАСЦІ РОСТУ РАСЛІНЫ

Агульныя палажэнні. *Рост* – незваротнае павелічэнне размераў і масы расліны, звязанае з новаўтварэннем элементаў яе структуры. Рост лакалізаваны ў мерыстэматычных тканках (апікальных, латэральных, інтэркалярных) і ажыццяўляецца ў сувязі з дзяленнем і расцягваннем клетак.

Для характарыстыкі росту выкарыстоўваюцца наступныя паказчыкі: дынаміка росту і хуткасць росту. *Дынаміка, ці ход росту*, – гэта змяненне размераў (масы) расліны з цягам часу:

$$H = f(t).$$

Яна выражаецца S-падобнай крывой, якая мае ўніверсальнае значэнне. Менавіта па такім законе растуць не толькі расліны, але

і ўсе жывыя арганізмы, папуляцыі, асобныя органы. Агульнабіялагічны характар крывой росту ўстаноўлены ў канцы мінулага стагоддзя Ю. Саксам (1872). На крывой росту выдзяляюць чатыры ўчасткі (перыяды): 1) пачатковы (індукцыйны), ці лаг-перыяд, калі адбываюцца працэсы, якія папярэднічаюць бачнаму росту (сінтэз бялкоў, ДНК, РНК, фітагармонаў). У гэты перыяд рост вельмі павольны; 2) лагарыфмічны (экспаненцыйны), ці перыяд інтэнсіўнага росту. Гэты перыяд характарызуецца хуткім расцягваннем клетак, фарміраваннем тканак і органаў; 3) запаволенага росту; 4) стацыянарнага стану, калі рост не назіраецца.

Абсалютная хуткасць росту (прырост) – павелічэнне размераў расліны за інтэрвал часу (хвіліну, гадзіну, суткі, год) – разлічваецца па формуле

$$V_{\text{абс}} = (H_2 - H_1) / (t_2 - t_1),$$

дзе H_2 і H_1 – зыходны і канцавы параметры расліны за перыяд $t_2 - t_1$. Хуткасць росту дасягае ў сярэднім 0,3 мм/гадз.

Адносная хуткасць росту – гэта доля (працэнт) прыросту памераў расліны за адзінку часу ад першапачатковага памеру:

$$V_{\text{адн}} = 100(H_2 - H_1) / H_1.$$

Ход работы. У дадзенай рабоце выконваюцца наступныя даследы.

Дослед 1. Вывучэнне росту караня пры дапамозе гарызантальнага мікраскопа.

На століку гарызантальнага мікраскопа замацаваць вільготную камеру з прарослым насеннем так, каб у полі зроку быў бачны кончык караня. Сумясціць кончык караня з дзяленнем у пачатку шкалы акулярмікромметра. Адзначыць зрухі кончыка, які нарастае, праз роўныя інтэрвалы часу (10–15 хвіл). Колькасць назіранняў павінна быць не меншая за пяць. Разлічыць хуткасць росту караня ў кожны прамежак часу, а таксама сярэдняю хуткасць за ўвесь перыяд назірання.

Вынікі запісаць у табліцу па наступнай форме:

Паказчыкі	Час назіранняў, хвіл						
	0	10	20	30	40	50	60
Адлікі па мікромметры							
Дынаміка росту караня, мм	0						
Прырост караня, мм	*						
Хуткасць росту, мм/гадз	*						
Сярэдняя хуткасць росту, мм/гадз							

Пабудаваць на адным графіку крывыя дынамікі і хуткасці росту (па восі абсцыс адкладзі час, а па восі ардынаты – паказчыкі росту).

Дослед 2. Вывучэнне прыросту ствала дрэва па дыяметры.

Устанавіць неабходнае павелічэнне і вызначыць цану дзялення акулярмікрометра бінакулярнага мікраскопа. Вымераць на папярочным разрэзе ствала дрэва з дакладнасцю да 0,1 мм шырыню гадавых кольцаў, а таксама шырыню позняй драўніны. Разлічыць долю позняй драўніны ў гадавым прыросце.

Даныя запісаць у табліцу па наступнай форме:

Год	Шырыня гадавога кольца, мм	Шырыня позняй драўніны, мм	Доля позняй драўніны ў гадавым прыросце, %	Ацэнка велічыні прыросту
1				
...				
Сярэдняе значэнне				—

Пабудаваць на графіку лініі змянення гадавых прыростаў ствала і прыростаў позняй драўніны, а таксама лінію сярэдняга прыросту. Выдзеліць на графіку гады са значным, сярэднім і нізкім прыростам. Параўнаць ацэнкі прыросту па гэтых гадах з ацэнкамі прыросту позняй драўніны. Вызначыць, ці наступіла кульмінацыя прыросту дрэва па дыяметры. Растлумачыць прычыны змянення прыросту (рознай хуткасці росту). Па апошнім гадавым кольцы ўстанавіць час высечкі дрэва: вясна – лета ці восень – зіма.

Дослед 3. Вывучэнне дынамікі росту парастка дрэвавай расліны.

Вымераць з дакладнасцю да 1 мм даўжыню сцябла ад яго ніжняга канца да кожнага вузла.

Вынікі запісаць у табліцу па наступнай форме:

Нумар міжвузелля ад ніжняга канца парастка	1	2	3	4	5	6	і г. д.
Даўжыня сцябла, см							

Пабудаваць графік дынамікі росту парастка, абазначыць на крывой перыяды росту. Паказаць перыяд найбольшай хуткасці росту. Растлумачыць прычыны запавольвання росту ў апошняй фазе.

Абсталяванне і матэрыялы: гарызантальны і бінакулярны мікраскопы; вільготная камера з прарослым насеннем; лінейка; папярочны зрэз ствала дрэва; парасткі дрэвавых раслін.

Кантрольныя пытанні. Даць азначэнне антагенезу, росту, развіцця. Па якім законе мяняецца вышыня расліны на працягу жыцця? Якія перыяды выдзяляюць на крывой росту, іх асаблівасці? Прыкладзіце формулу вызначэння абсалютнай і адноснай хуткасці росту. З якіх частак складаецца гадавы прырост дрэва па дыяметры? Чаму гадавыя кольца адрозніваюцца па шырыні? Якія знешнія фактары найбольш вызначаюць ваганне шырыні гадавых кольцаў? Чаму даўжыня міжвузелляў парастка не аднолькавая? За кошт якіх пажыўных рэчываў – бягучага года ці адкладзеных у мінулым годзе ў запас – адбываецца рост дрэва ў вышыню, па дыяметры? За кошт якіх тканак і як расце дрэва? Чым адрозніваюцца парасткі з фіксаваным ростам ад парасткаў з нефіксаваным ростам? Назавіце расліны з фіксаваным і нефіксаваным ростам парасткаў.

Лабараторная работа № 29

УПЛЫЎ АЎКСІНУ НА РОСТ КАРАНЁЎ

Агульныя палажэнні. Група фітагармонаў пад назвай *аўксіны* аб'ядноўвае злучэнні індольнай прыроды: *індалілвоцатную кіслату (ІВК)* і яе вытворныя (індаліл-3-воцатальдэгід, індаліл-3-воцатанітрыл, індаліл-3-малочная кіслата, метылавы і этылавы эфіры ІВК і інш.).

Аўксін ІВК утвараецца пераважна ў верхавінкавых мерыстэмах сцёблаў, каранёў, у зародку, які расце, у маладых лістах. Аўксін стымулюе ўсе тры фазы развіцця клетак. З гэтым яго дзеяннем звязаны ўтварэнне каранёў, камбіяльная актыўнасць, утварэнне калусу, разрастанне завязі партэнакарпічных пладоў. Аўксін рэгулюе фарміраванне праводзячых пучкоў, абумоўлівае фота- і геатрапізм у раслін, вызначае апікальнае дамінаванне, рэгулюе цвіццё, рост і паспяванне пладоў, ападанне лістоў, завязі і пладоў. У залежнасці ад канцэнтрацыі аўксін можа ці стымуляваць, ці затарможваць рост раслін.

Для росту караня неабходны нізкія (10^{-11} – 10^{-10} М) канцэнтрацыі аўксіну.

Ход работы. Прыгатаваць у пяці чашках Петры растворы аўксіну розных канцэнтрацый шляхам разбаўлення. Для гэтага ў першую чашку ўнесці 1 мл зыходнага 0,1%-нага раствору аўксіну і дадаць 9 мл вады (канцэнтрацыя атрыманага раствору 0,01%), у другую – 1 мл 0,01%-нага раствору з першай чашкі і 9 мл вады (канцэнтрацыя раствору 0,001%), у трэцюю – 1 мл раствору з другой

чашкі і 9 мл вады (канцэнтрацыя раствору 0,0001%), у чацвёртую – 1 мл з трэцяй чашкі і 9 мл вады (канцэнтрацыя раствору 0,00001%), у пятую чашку наліць 10 мл дыстыляванай вады.

На дно кожнай чашкі палажыць кругі з фільтравальнай паперы роўнага з чашкай дыяметра і раўнамерна раскласці пры дапамозе пінцэта па 25 шт. насення. Закрыць чашкі накрыўкамі, падпісаць маркёрам на накрыўках канцэнтрацыі ІВК і паставіць у цёплае цёмнае месца.

Праз 5–7 дзён у кожным варыянце доследу падлічыць колькасць прарослага насення, вымераць з дакладнасцю да 1 мм у кожнага семени самы доўгі карань, вызначыць сумарную і сярэднюю даўжыню найдаўжэйшых каранёў. Разлічыць сярэднюю даўжыню каранёў у працэнтах да кантролю для кожнага варыянта доследу.

Атрыманыя даныя занесці ў табліцу па прыведзенай форме:

Варыянт доследу	Колькасць прарослага насення, %	Агульная даўжыня найбольшых каранёў, см	Сярэдняя даўжыня найбольшых каранёў, см	Даўжыня каранёў у % да кантролю
Вада (кантроль)				100
0,00001%				
0,0001%				
0,001%				
0,01%				

Прааналізаваць вынікі, пабудаваць графік залежнасці даўжыні каранёў ад канцэнтрацыі раствору, абазначыць зону аптымальных канцэнтрацый аўксіну, зрабіць вывады пра ўздзеянне аўксіну на рост каранёў.

Абсталяванне і матэрыялы: чашкі Петры (5 шт.); нажніцы; пінцэты (5 шт.); мерныя цыліндры на 10 мл (5 шт.); піпеткі на 1 мл (5 шт.); фільтравальная папера; 0,1%-ны раствор ІВК; насенне зерневых ці дрэвавых раслін.

Кантрольныя пытанні. Што такое антагенез, рост, развіццё? Чым вызначаецца ход развіцця расліны? Якая роля знешняга асяроддзя ў развіцці? Якая роля фітагармонаў? Назваць віды фітагармонаў і месцы іх утварэння ў раслінах. Якая хімічная будова ІВК? Якія фітагармоны ўваходзяць у групу аўксінаў? Дзе сінтэзуецца аўксін у раслінах? Якія фітагармоны з'яўляюцца стымулятарамі, якія – інгібітарамі? Назваць фізіялагічную ролю аўксіну. Як аўксін уздзейнічае на прарастанне насення? Якія

канцэнтрацыі аўксіну з'яўляюцца аптымальнымі для росту каранёў даследуемага насення? Як уздзеянне аўксін на рост каранёў пры нізкіх і высокіх канцэнтрацыях? Якія малярныя і працэнтныя канцэнтрацыі аўксіну з'яўляюцца ў сярэднім аптымальнымі для росту каранёў раслін?

Лабараторная работа № 30 УЗДЗЕЯННЕ АЎКСІНУ НА ЎКАРАНЕННЕ ЧАРАНКОЎ

Агульныя палажэнні. Укараненне чаранкоў звязана з працэсам *рэгенерацыі* – аднаўленнем арганізмам пашкоджаных ці згубленых частак цела. У сцябловых чаранкоў карані закладваюцца ў калуснай тканцы ці ў звычайных тканках – перыцыкле альбо камбіі. *Калус* утвараецца з клетак камбію і ўяўляе сабой вялікую колькасць рыхлых парэнхімных клетак на месцы пашкоджання. Утварэнню калусу ці зачаткаў каранёў са спецыялізаваных тканак папярэднічае *дэдыферэнцыроўка* клетак гэтых тканак (развіццё клетак у адваротным напрамку, у выніку чаго яны губляюць спецыялізацыю).

Закладанне адвентыўных каранёў індукуюцца ІВК (гл. лаб. работу № 29), якая, дзякуючы палярнасці чаранка, транспартуецца да яго базальнага канца і актывізуе дзяленне і дыферэнцыроўку клетак. Утварэнне аўксіну забяспечваецца лістамі і пупышкамі. Паколькі лісты з'яўляюцца крыніцай ІВК, большасць раслін укараняецца зялёнымі (з лістамі) чаранкамі. Да ўкаранення бязліставымі чаранкамі здольныя толькі асобныя віды (таполі, некаторыя івы і інш.). Чаранкі без лістоў і пупышак не ўкараняюцца ці ўкараняюцца цяжка.

Наогул, здольнасць раслін да ўкаранення чаранкамі не аднолькавая. Пры вегетатыўным размнажэнні раслін, якія цяжка ўкараняюцца, выкарыстоўваюць стымулятары росту, у прыватнасці аўксін.

Ход работы. Дзве шклянкі ёмістасцю 100–150 мл абгарнуць чорнай паперай. Наліць у шклянкі водаправодную ваду на таўшчыню слоя 4–5 см.

Зрэзаць лязом каля каранёвай шыікі шэсць аднолькавых 10-дзённых парасткаў фасолі вышыняй 10–15 см. Тры парасткі паставіць у першую шклянку з водаправоднай вадой (кантроль). Астатнія – у раствор ІВК са змесцівам аўксіну 70 мг/л. Вытрымаць парасткі ў

гэтым раствору 5 гадз, потым прамыць іх водаправоднай вадой і паставіць у другую шклянку з вадой (дослед). Пакінуць чаранкі на святле пры пакаёвай тэмпературы.

Праз пэўны час, калі на сцёблах адрасуць прыдаткавыя карані, вымераць даўжыню зоны рызагенезу і падлічыць колькасць каранёў на кожным чаранку.

Вынікі доследу занесці ў табліцу па форме:

Варыянт доследу	Колькасць чаранкоў, шт.	Агульная колькасць каранёў, шт.	Сярэдняя колькасць каранёў на адным чаранку, шт.	Сярэдняя даўжыня зоны рызагенезу, см
Кантроль				
Дослед				

Зрабіць вывады пра уплыў ІВК на ўкараненне чаранкоў.

Абсталяванне і матэрыялы: шклянкі ёмістасцю 100–150 мл (2 шт.); скальпель; чорная папера; раствор ІВК; 10-дзённыя парасці фасолі.

Кантрольныя пытанні. Якія працэсы ўключае антагенез? Да якога працэсу антагенезу адносіцца ініцыяцыя каранёўтварэння ў чаранка? У якіх тканках закладваюцца зачаткі каранёў? Што ёсць калус, камбій, перыцыкл? Што такое дыферэнцыроўка, дэдыферэнцыроўка? Якія карані называюць адвентыўнымі? Чаму з'яўляюцца (летнія) чаранкі ўкараняюцца лепш за зімнія? Якая фізіялагічная роля і практычнае выкарыстанне аўксіну? Чаму аўксін транспартуецца да базальнага канца чаранка? Па якой тканцы транспартуецца аўксін? Як у штучных умовах стымуляваць укараненне чаранкоў?

Лабараторная работа № 31 РОСТАВЫ РУХ РАСЛІН ПАД УЗДЗЕЯННЕМ ГРАВІТАЦЫІ

Агульныя палажэнні. Выгінанні органаў раслін у працэсе росту (роставыя рухі), якія ўзнікаюць пад аднабаковым уздзеяннем знешніх фактараў (святла, сілы цяжару, хімічных рэчываў і інш.), называюцца *трапізмамі*. У залежнасці ад віду ўздзеяння бываюць фота-, геа-, хематрапізмы. Калі выгінанне ідзе ў бок раздражняльніка, то трапізм называецца дадатным, калі наадварот – адмоўным. Трапізмы абумоўлены нераўнамерным размеркаваннем аўксіну на процілеглых баках органа расліны.

Геатрапізм – гэта змяненне напрамку росту органаў расліны пад уплывам аднабаковага дзеяння сілы зямнога прыцяжэння. Сіла зямнога прыцяжэння выклікае рост парасткаў уверх, а каранёў – уніз.

Ход работы. 10 шт. прарослага насення дрэвавай расліны змясціць паміж дзвюма шклянымі пласцінамі, высланымі ў два слаі ўвільготненай фільтравальнай паперай. Змацаваць сабраную такім чынам устаноўку гумавымі кольцамі і апусціць у крышталізатар з вадой (вада не павінна даставаць да насення). Паставіць устаноўку ў цемру.

Праз некалькі дзён, калі карані дасягнуць даўжыні 2–3 см, у пяці праросткаў адрэзаць лязом кончык караня каля 1–2 мм. Пласціны павярнуць на 90° такім чынам, каб карані апынуліся ў гарызантальным становішчы, і зноў апусціць у эксікатар з вадой. Ужо праз 30–40 хвіл у некранутых праросткаў пачынаецца скрыўленне кончыкаў каранёў у зоне росту, у каранёў з адрэзаным кончыкам скрыўленне не назіраецца. Праз некалькі дзён зноў павярнуць пласцінкі на 90°.

Замалюваць назіраемую карціну росту каранёў. Абзначыць на малюнку зоны караня, паказаць месца ўспрыняцця раздражнення ад дзеяння зямнога прыцяжэння і зону рэакцыі. Зрабіць адпаведныя вывады.

Матэрыялы і абсталяванне: шклянныя пласціны 10×10 см; фільтравальная папера; крышталізатар з вадой; прарослае насенне дрэвавых раслін.

Кантрольныя пытанні. Што ёсць трапізм? Якія віды трапізмаў выдзяляюць? Роля трапізмаў у жыцці раслін? У якім месцы караня знаходзіцца зона ўспрыняцця геатрапізму, зона рэакцыі? Што такое статацыты і статаліты? Дзе ў караня знаходзяцца статаліты? Які, дадатны ці адмоўны, геатрапізм у парастка, у караня? Растлумачце механізм геатрапізму.

9. УСТОЙЛІВАСЦЬ РАСЛІН

Пад устойлівасцю разумеюць здольнасць раслін пераносіць без істотных парушэнняў асноўных жыццёвых функцый неспрыяльныя ўздзеянні фактараў знешняга асяроддзя – высокіх ці нізкіх тэмператур, недастатковай ці павышанай вільготнасці паветра і глебы, павялічанай салёнасці глебы, загажаванасці паветра, радыеактыўнага выпраменьвання і інш. Здольнасць да аховы ад дзеяння неспрыяльных фактараў – гэта генетычна абумоўленая здольнасць, якая з'яўляецца вынікам адаптацыі віду да ўмоў жыцця на працягу ўсёй гісторыі свайго развіцця. У залежнасці ад дзеючых фактараў адрозніваюць марозаўстойлівасць, холадаўстойлівасць, зімаўстойлівасць, гарачаўстойлівасць і інш.

Разуменне сутнасці з'явы ўстойлівасці раслін – важная ўмова іх паспяховага вырошчвання.

Лабараторная работа № 32 АХОЎНАЕ ЎЗДЗЕЯННЕ ЦУКРУ НА ЦЫТАПЛАЗМУ ПРЫ ЗАМАРОЖВАННІ

Агульныя палажэнні. Адмоўныя тэмпературы прыводзяць да ўтварэння ў міжклетніках тканак крышталёў ільду. Рост крышталёў суправаджаецца адцягваннем вады з клетак з сілай, якая перавышае сілы ўтрымлівання вады ў цытаплазме. У выніку страты вады змяншаецца гідратная абалонка малекул бялку, парушаецца іх структура і цытаплазма каагулюе. Пры хуткім зніжэнні тэмпературы вада замярзае і ўнутры клетак. Крышталі, якія растуць, наносяць механічныя пашкоджанні ўнутрыклетачным структурам і плазмалеме. Пра ступень пашкоджання цытаплазмы можна меркаваць па яе ўласцівасці ўтрымліваць клетачны сок.

Павышэнню ўстойлівасці раслін садзейнічае назапашванне ў клетках ахоўных рэчываў – *крыяпратэктараў*. Да іх належаць злучэнні, здольныя звязваць вялікую колькасць вады: гідрафільныя бялкі, мана- і алігасакхарыды. Звязаная вада не замярзае і ўтрымліваецца ў клетцы з вялікай сілай.

Ход работы. З папярочнага зрэзу караняплода чырвонага ставловага бурака таўшчынёй каля 3 мм зрабіць коркавым свярдзёлкам дыяметрам 8 мм шэсць высечак. Прамыць іх водаправоднай вадой да поўнага выдалення соку пашкоджаных клетак, абсушыць фільтравальнай паперай і змясціць па 2 шт. у тры прабіркі.

У першую прабірку наліць 5 мл вады, у другую – 5 мл 0,5М раствору цукрозы, у трэцюю – 5 мл 1М раствору цукрозы. Прабіркі памесціць і змясціць на 10–20 хвіл у ахаладжальную сумесь. Працягласць утрымання залежыць ад тэмпературы і вызначаецца разам з выкладчыкам. Ахаладжальная сумесь гатуецца з трох частак снегу альбо колатага льду і адной часткі харчовай солі, якія перамешваюцца (лёд здрабняецца ў сурвэтцы на гумавай падкладцы). Колькасць сумесі павінна быць не менш за 2/3 вышыні прабірак.

Варыянт	Тэмпература замарожвання	Ступень афарбоўкі раствору (слабая – 1, сярэдняя – 2, моцная – 3) альбо аптычная шчыльнасць D	Адносная колькасць жывых клетак, %
Вада			
Цукроза 0,5М			
Цукроза 1М			

Праз пэўны час прабіркі змясціць у шклянку з вадой пакаёвай тэмпературы для размарожвання. Праз некалькі хвілін размарожвання не можна паскорыць, саграваючы прабіркі ў далонях. Раствор узбоўтаць і вызначыць розніцу ў афарбоўцы на вока альбо на ФЭКУ.

Прыгатаваць з дыскаў тонкія зрэзы і разгледзець іх пад мікраскопам у кроплі 8%-нага раствору NaCl. Вызначыць адносную колькасць плазмалізаваных (гл. лаб. работу № 4) і мёртвых клетак у полі бачання мікраскопа.

Вынікі доследу запісаць па форме прыведзенай вышэй табліцы.

Зрабіць вывады пра уплыў канцэнтрацыі раствору цукрозы на ўстойлівасць цытаплазмы. Растлумачыць прычыны рознай афарбоўкі раствораў у прабірках.

Абсталяванне і матэрыялы: скальпель; коркавы свярдзёлак дыяметрам 8 мм; прабіркі (3 шт.); фарфаравая і шкляная ёмістасці на 200–250 мл; піпетка на 10 мл; кювета для снегу і льду; падкладка гумава; малаток; лапатка; мікраскоп; прадметнае і покрывнае шкло; ФЭК; марлевая сурвэтка; фільтравальная папера; 0,5 і 1М растворы цукрозы; 8%-ны раствор NaCl; харчовая соль; лёд альбо снег; караняплод чырвонага бурака.

Кантрольныя пытанні. Што разумеюць пад устойлівасцю расліны? Як расліны пашкоджваюцца нізкімі тэмпературамі? Якія рэчывы і чаму садзейнічаюць павышэнню ўстойлівасці раслін да нізкіх тэмператур? Што такое крыяпратэктары? У якім раствору

цукрозы – 0,5М ці 1,0М – пасля замарожвання ў тканцы застаецца больш плазмалізаваных клетак? Чаму? Як звязана афарбоўка раствору з колькасцю жывых клетак у тканках бурака? Чаму пры змешванні снегу з соллю сумесь ахалоджваецца? У чым адрозненне холадаўстойлівасці ад марозаўстойлівасці? Чаму цеплалюбныя расліны пашкоджваюцца пры нізкіх дадатных тэмпературах, а марозаўстойлівыя вытрымліваюць значныя тэмпературы ніжэй за нуль? Якія ператварэнні адбываюцца ў тканках дрэвавых раслін пры наступленні маразоў? Як расліны набылі ўстойлівасць да неспрыяльных фактараў?

Лабараторная работа № 33 ГАРАЧАЎСТОЙЛІВАСЦЬ РАСЛІН (паводле Ф. Ф. Мацкова)

Агульныя палажэнні. Пры працяглым дзеянні высокіх тэмператур у раслінах адбываюцца глыбокія парушэнні абмену рэчываў. Павялічваецца дыханне, але энергетычны выхад яго становіцца меншым у сувязі з парушэннем працэсаў фасфарылявання. Распад рэчываў пачынае перавышаць анабалічныя працэсы. Пры гідролізе бялкоў вызваляецца шкодны для клетак аміяк. Парушаецца структура бялку, у выніку чаго змяняюцца функцыі мембран. Адзначаныя з’явы назіраюцца ў няўстойлівых раслін пры тэмпературы вышэй за 40–45°C.

Гарачаўстойлівасць раслін можна вызначыць па ўстойлівасці хларафіланосных тканак. Пры пашкоджанні ліста клетачныя мембраны губляюць уласцівасць паўперанікальнасці (гл. лаб. работу № 1), і кіслы клетачны сок ці слабы раствор салянай кіслаты, у які апускаецца ліст, трапляе ў хларапласт. Утвараецца феафіцін (гл. лаб. работу № 10), у выніку чаго мёртвыя клеткі становяцца бурымі.

Ход работы. Пяць проб лістоў доследных раслін змясціць у вадзяную грэлку з пастаяннай тэмпературай 40°C на 30 хвіл, затым узяць першую пробу і перанесці яе ў чашку Петры з халоднай вадой (чашку падпісаць). Павысіць тэмпературу ў вадзяной грэлцы да 50°C, праз 10 хвіл дастаць з яе другую пробу і змясціць у другую чашку Петры. Паступова давесці тэмпературу да 80°C. Пробы браць праз 10 хвіл пасля павышэння тэмпературы на 10°C.

Замяніць ваду ў чашках 0,2Н раствором салянай кіслаты і праз 20 хвіл вызначыць ступень пашкоджання лістоў па колькасці бурых плям, якія з’явіліся.

Вынікі запісаць у табліцу па прыведзенай ніжэй форме, адзначаючы ў адпаведных графах ступень пабурэння лістоў (слабае пабурэнне, сярэдняе – больш за 50%, моцнае – амаль агульнае пабурэнне).

Аб'екты даследавання	Ступень пашкоджання лістоў пры тэмпературы, °С				
	40	50	60	70	80

Зрабіць вывады пра гарачаўстойлівасць доследных раслін. Растлумачыць механізм змянення ўласцівасцей мембраны пад уздзеяннем высокіх тэмператур.

Абсталяванне і матэрыялы: вадзяная грэлка; тэрмометр; пінцэт; чашкі Петры (5 шт.); аловак па шкле; 0,2Н раствор HCl; свежыя лісты раслін.

Кантрольныя пытанні. Што разумеюць пад гарачаўстойлівасцю? Чаму высокія тэмпературы шкодныя для расліны? Як расліна рэагуе на павышаныя тэмпературы? Чаму пры павышаных тэмпературах павялічваецца дыханне, але эфектыўнасць яго зніжаецца? Што адбываецца ў выніку перавышэння катабалічных працэсаў над анабалічнымі? На якіх функцыях мембран адбываецца парушэнне іх структуры? Сутнасць метаду вызначэння гарачаўстойлівасці раслін.

Лабораторная работа № 34 **ТЭМПЕРАТУРНЫ ПАРОГ КААГУЛЯЦЫІ** **ЦЫТАПЛАЗМЫ (паводле П. А. ГЕНКЕЛЯ)**

Агульныя палажэнні. Пры ўздзеянні высокай тэмпературы парушаецца працэс жыццядзейнасці клетак раслін (гл. лаб. работу № 33). Пры крытычных значэннях тэмператур цытаплазма каагулюе.

Клеткі розных раслін маюць неаднолькавую гарачаўстойлівасць. Для ацэнкі гарачаўстойлівасці расліны вызначаецца тэмпературны парог каагуляцыі бялкоў цытаплазмы клетак. Тэмпература, пры якой на працягу 10 хвіл цалкам каагулююць бялкі цытаплазмы, лічыцца ўмоўнай мяжой гарачаўстойлівасці расліны. Гібель клетак устанаўліваецца па страце імі здольнасці плазмалізавацца.

Ход работы. Прыгатаваць 12 зрэзаў эпідэрмісу ліста даследуемай расліны і змясціць па два зрэзы ў прабірку, у якія наліта невялікая колькасць водаправоднай вады. Нагрэць у вялікай колбе ваду. Змешваючы гарачую ваду з халоднай, прыгатаваць ў шасці хімічных шклянках вадзяныя бані з тэмпературай 48, 50, 52, 54, 56 і 58°C (зрабіць на шклянках абазначэнні алоўкам па шкле).

Паставіць адначасова ў вадзяныя бані прабіркi са зрэзамі і падтрымліваць устаноўленыя тэмпературы шляхам падлівання ў шклянкі гарачай вады. Праз 10 хвіл дастаць зрэзы пэндзлікам з прабірак і перанесці на прадметнае шкло, памечанае адпаведнымі надпісамі. Калі клеткі не ўтрымліваюць пігментаў, афарбаваць іх, для чаго капнуць на зрэзы раствору нейтральнага чырвонага і вытрымаць іх там 5–10 хвіл. Затым выдаліць раствор фарбы фільтравальнай паперай, прыліць замест яе па кроплі 1 М раствору цукрозы. Закрыць зрэзы пакрыўным шклом і праз 15–20 хвіл разгледзець у мікраскоп.

Вынікі запісаць у табліцу, пазначаючы плазмоліз знакам «+» і адсутнасць плазмолізу – знакам «–».

Від расліны	Вынікі назірання плазмолізу пры тэмпературы, °С					
	48	50	52	54	56	58

Дослед праводзіцца ў некалькіх варыянтах.

Зрабіць вывады пра гарачаўстойлівасць вивучаемых раслін, параўноўваючы тэмпературны парог каагуляцыі бялкоў.

Абсталяванне і матэрыялы: электраплітка; шклянкі хімічныя вялікія (6 шт.); прабіркi (5 шт.); колба вялікая; тэрмометр; лязо брытвы; прэпаратавальная іголка; пэндзлік; мікраскоп; прадметнае і пакрыўнае шкло; кавалачкі фільтравальнай паперы; аловак па шкле; свежыя лісты розных дрэвавых раслін; 1 М раствор цукрозы ў кропельніцы; 0,02%-ны раствор нейтральнага чырвонага.

Кантрольныя пытанні. Як дзейнічаюць на цытаплазму крытычныя высокія тэмпературы? Што ёсць каагуляцыя? Як у доследзе вызначаецца гібель клеткі? Што азначае адсутнасць або наяўнасць плазмолізу?

Лабараторная работа № 35 УЗДЗЕЯННЕ ЛЯТУЧЫХ ВЫДЗЯЛЕННЯЎ РАСЛІН НА ПРАСТААННЕ НАСЕННЯ

Агульныя палажэнні. У прыродных і культурных фітацэнозах важным фактарам у жыцці раслін з'яўляецца суседства з іншымі, якія выдзяляюць розныя злучэнні спецыфічнага характару праз карані і ў выглядзе лятучых рэчываў праз лісты. Узаемны ўплыў раслін праз каранёвыя і ліставыя выдзяленні атрымаў назву *алелапатыі*. Алелапатыя – важная ўмова фарміравання прыродных раслінных

згуртаванняў, яе абавязкова трэба ўлічваць пры стварэнні змешаных пасеваў культурных раслін. Алелапатыя тлумачыць неабходнасць барацьбы з пустазеллем, якое не толькі выступае ў якасці канкурэнта культурных раслін за вільгаць, жыўленне, святло, але і прыгнятае іх прарастанне, рост і развіццё праз спецыфічныя выдзяленні.

Ход работы. Размясціць у чатырох чашках Петры па акружнасці на ўвільготненай фільтравальнай паперы па 10 (буйных) ці 20 (дробных) штук прараслага насення. Адна чашка з'яўляецца кантрольнай, тры іншыя выкарыстоўваюцца для вывучэння ўздзеяння на насенне лятучых выдзяленняў розных раслін.

Расцерці 3–5 г тканкі вывучаемай расліны ў фарфаравай ступцы, дадаўшы крыху кварцавага пяску і 3 мл вады. Хутка перанесці кашку ў бюкс, які змясціць ў цэнтры чашкі Петры. Закрыць чашку накрыўкай з кружком увільготненай фільтравальнай паперы. Адзначыць на этыкетцы від расліны, выдзяленні якой вывучаюцца. У кантролі замест кашкі расліннай тканкі выкарыстоўваецца вада.

Праз тыдзень прааналізаваць вынікі доследу. Падлічыць колькасць насення, утварыўшага карані, вымераць даўжыню каранёў.

Вынікі запісаць у табліцу па наступнай форме:

Варыянт випыту	Від насення	Насенне, якое ўтварыла карані, %	Сярэдняя даўжыня каранёў, мм
Кантроль			

Магчымыя варыянты доследу.

1. Вывучыць уздзеянне на насенне ячменю ліставых выдзяленняў пеларгоніі, бегоніі, традэсканцыі, алоэ.

2. Вывучыць уздзеянне на насенне хваёвых раслін газападобных выдзяленняў пустазелля, лістоў дуба, бярозы, пупышак розных раслін.

Зрабіць вывады пра ўплыў выдзяленняў доследных відаў раслін на прарастанне і даўжыню каранёў насення ў параўнанні з кантролем.

Матэрыялы і абсталяванне: чашкі Петры (4 шт.); бюксы (4 шт.); фарфаравыя ступкі (2 шт.); фільтравальная папера; пінцэт; насенне; лісты раслін.

Кантрольныя пытанні. Сутнасць алелапатыі, яе біялагічная значнасць. Якія хімічныя рэчывы выдзяляюцца праз карані і лісты? Чаму расліны выдзяляюць праз карані і лісты розныя хімічныя рэчывы?

ДАДАТАК

1. Спіс рэактываў

№ п/п	Рэактыў	№ лабараторных работ
1	2	3
1	Амоній азотнакіслы (NH_4NO_3)	22, 24
2	Аскарбінавая кіслата крышталічная	12
3	Аўксін (індалілвоцатная кіслата)	29, 30
4	Ацэтон (CH_3COCH_3)	9, 10
5	Барыю гідравокіс ($\text{Ba}(\text{OH})_2$)	13, 14, 19
6	Бензідын	16
7	Бензін	10
8	Воцатная кіслата (CH_3COOH)	1, 3, 16
9	Гліцэрына	25
10	Ёд (I)	3, 19, 25, 26, 27
11	Жалеза сернакіслае ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	22
12	Жалеза хларыд (FeCl_3)	6, 24
13	Калій азотнакіслы (KNO_3)	2, 6, 24
14	Калій гідрафосфарнакіслы (K_2HPO_4)	20, 21
15	Калій дыгідрафосфарнакіслы (KH_2PO_4)	6, 22, 24
16	Калій ёдзісты (KI)	3, 25, 26, 27
17	Калій хларысты (KCl)	6, 22, 24
18	Калію біхрамат ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)	–
19	Калію гідравокіс (KOH)	10
20	Кальцый азотнакіслы ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)	6, 24
21	Кальцый вуглякіслы (CaCO_3)	9, 17, 21
22	Кальцый хларысты (CaCl_2)	23
23	Крухмал ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$) _n	3, 27
24	Лімонная кіслата	22
25	Магній сернакіслы водны ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	6, 20, 21, 22, 24
26	Мачавіна ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$)	20
27	Медзь сернакіслая водная (медны купарвас – $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	25, 26
28	Метылавы чырвоны	12
29	Метыленавы сіні	5, 23
30	Натрый вуглякіслы – сода (Na_2CO_3)	19
31	Натрый сернакіслы (Na_2SO_4)	10
32	Натрый хларысты (NaCl)	4, 22, 32
33	Натрыю гідравокіс (NaOH)	3, 15, 16, 25, 26
34	Нашатырны спірт (NH_4OH)	2
35	Нейтральны чырвоны	2, 34
36	Неслера рэактыў	20
37	Перакід вадароду (H_2O_2)	16, 17

1	2	3
38	Петралеіны эфір	10
39	Салёная кіслата (HCl)	3, 10, 13, 14, 33
40	Сегнетава соль ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	20, 25, 26
41	Серная кіслата (H_2SO_4)	–
42	Солад (раствор амілазы)	3, 27
43	Спірт этылавы ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	1, 9, 10, 12, 25
44	Судан-III	25, 26
45	Фенолфталеін ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4$)	13, 14
46	Цукроза ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)	1, 5, 19, 21, 22, 32, 34
47	Цынк воцатнакіслы ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$)	10
48	Эазін ($\text{C}_{20}\text{H}_8\text{O}_5\text{Br}_4$)	8

2. Прыгатаванне некаторых раствораў і рэактываў

• *Хромавая сумесь для мыцця посуду*: у фарфоровую чашку ёмістасцю прыкладна 300–500 мл змясціць 5 г тонка здробненага ў ступцы $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (альбо 6 г $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), уліць 100 мл канцэнтраванай H_2SO_4 . Асцярожна нагрэць на вадзяной грэўцы да поўнага растварэння. Сумесь можна выкарыстоўваць шматразова.

• *Раствор ёду ў ёдзістым каліі*: 2 г KI растварыць у 5 мл вады, дадаць 1 г металічнага ёду і пасля яго растварэння даліць 295 мл вады. Захоўваць у цёмнай шклянцы з прыцёртым коркам. Для атрымання слабага раствора 20 мл канцэнтраванага разбавіць вадой да 1 л.

• *Рэактыў Фелінга*: прыгатаваць два растворы, якія змешваюцца ў роўных колькасцях толькі перад выкарыстаннем. Першы раствор: 20 г меднага купарвасу ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) растварыць у 250 мл дыстыляванай вады ў мерным цыліндры ёмістасцю 500 мл і давесці да меткі (4%-ны раствор). Другі раствор: у 200–250 мл вады растварыць 100 г сегнетавай солі, у 100 мл вады растварыць 75 г едкага натру. Растворы змяшаць у колбе ёмістасцю 500 мл і давесці да меткі.

• *Раствор фарбавальніка Судан-III*: растварыць 0,2 г фарбавальніка Судан-III у 20 мл 96%-нага спірту, дадаць 20 мл гліцэрыны, размяшаць і адфільтраваць.

• *Раствор індалілвоцатнай кіслаты (ІВК) водны*: 70 мг ІВК растварыць у 10–15 мл гарачай вады і даліць халоднай вады да 1 л. Раствор можна выкарыстоўваць толькі на працягу некалькіх гадзін.

• *Раствор IBK 0,1%-ны*: 100 мг IBK (ці гетэрааўксін) растварыць у хімічнай шклянцы ў 1 мл этылавага спірту, даліць 5–10 мл вады, перанесці ў мерную колбу ёмістасцю 100 мл і разбавіць вадой да меткі.

• *Ацэтатны буфер з pH 5,4*: да 69,3 мл 1Н раствору воцатнай кіслаты дадаць 50 мл 1Н раствору едкага натру і разбавіць дыстыляванай вадой да 500 мл;

з pH 5,5: да 57,4 мл 1Н раствору воцатнай кіслаты даліць 50 мл 1Н NaOH і разбавіць дыстыляванай вадой да 500 мл;

з pH 3,8: да 421,5 мл 1Н раствору воцатнай кіслаты ўліць 50 мл 1Н NaOH і разбавіць дыстыляванай вадой да 500 мл.

• *Раствор бензідыну ў ацэтатным буферы з pH 5,4*: у мерную колбу ёмістасцю 200 мл наліць каля 150 мл дыстыляванай вады, дадаць 2,3 мл (2,4 г) ледзяной воцатнай кіслаты і 184 мл бензідыну. Сумесь нагрэць на вадзяной грэлцы да 50–60°C, перыядычна перамешваючы. Пасля поўнага растварэння бензідыну (на працягу 10–15 хвіл) дадаць 5,45 г воцатнакіслага натрыю, цалкам яго растварыць, змесціва колбы ахаладзіць і даліць дыстыляванай вады да меткі. Захоўваць у халадзільніку да 7 дзён.

• *0,0003 M раствор метыленавага сіняга*: падсушыць метыленавы сіні пры 95–100°C і растварыць 112 мг у 1 л вады.

• *Фенолфталеін*: 0,5 г фенолфталеіну растварыць у 100 мл 96°-нага спірту. Індыкатар мяняе афарбоўку ад бясколернай да малінавай у межах pH 8,2–10,0.

• *0,003%-ны раствор эзіну*: растварыць 30 мг эзіну ў 1 л дыстыляванай вады.

• *20%-ны раствор HCl*: 497 мл канцэнтраванай кіслаты давесці вадой да 1 л.

• *0,1N раствор HCl*: 8,2 мл канцэнтраванай кіслаты давесці дыстыляванай вадой да 1 л.

• *Раствор амілазы (солад)*: 10–15 г прарослага насення пшаніцы, ячменю ці гароху расцерці з прамытым пяском і 10–15 мл 1%-нага NaCl. Суспензію перанесці ў шклянку, разбавіць растворам NaCl да 50 мл і паставіць на 1 гадз у халадзільнік. Сумесь перамешваць праз кожныя 15 хвіл. Затым выцяжку адцэнтрыфугаваць ці адфільтраваць. Фільтрат захоўваць у халадзільніку.

• *Раствор гідраксиду барыю 0,025 M*: для падрыхтоўкі 1 л раствору патрабуецца 2,14 г Ba(OH)₂. Паколькі ў рэактывы змяшчаецца прымешка BaCO₃, узяць наважку 3,5 г. Растварыць

рэчыва ў гарачай кіпячай дыстыляванай вадзе (дыстыляваную вадку кіпяціць 90 хвіл для выдалення CO_2) і ўзбоўтаць. Пасля астуджэння пераліць раствор у склянку са шчыльным коркам і пакінуць на некалькі сутак, перыядычна ўзбоўтваючы. Пасля адстойвання зліць сіфонам празрысты раствор у бутлю, злучаную з бюрэткай. Закрыць бутлю коркам, у якой устаўлена трубка з $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

• *Пажыўнае асяроддзе для культуры азотабактэры:* растварыць у 100 мл гарачай водаправоднай вадкі агар-агара – 1 г, цукрозы – 1 г, K_2HPO_4 – 0,025 г, MgSO_4 – 0,025 г і дадаць 0,5 г CaCO_3 . Разліць гарачае асяроддзе ў 2–3 працёртыя спіртамі чашкі Петры па 25–30 мл у кожную, добра размешваючы парашок мелу, які не раствараецца. Паставіць чашкі на гарызантальную паверхню і дачакацца застывання асяроддзя.

3. Астуджальныя сумесі

Рэчыва	Доля ў сумесі з лёдам, %	Тэмпература сумесі, °C	Рэчыва	Тэмпература сумесі, °C
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	41	–9,0	Вадкі азот з ацэтонам	Да –150
NH_4NO_3 з этанолам	16	–14	Цвёрдая CO_2	Ад –72 да –115
NH_4Cl	25	–15,8	Цвёрдая CO_2 з ацэтонам	–80
NH_4NO_3	60	–17,3	Вадкі азот	–196
NaCl	33	–21,2	–	–
NaCl	82	–21,5	–	–
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	125	–40,3	–	–
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	143	–55,0	–	–

4. Атамныя масы некаторых элементаў

Назва элемента	Сімвал	Атамная маса	Назва элемента	Сімвал	Атамная маса
Азот	N	14,01	Медзь	Cu	63,54
Барый	Ba	137,36	Натрый	Na	22,99
Вадарод	H	1,008	Ртуць	Hg	200,61
Жалеза	Fe	55,85	Сера	S	32,07
Ёд	I	126,91	Серабро	Ag	107,88
Калій	K	39,10	Вуглярод	C	12,01
Кальцый	Ca	40,08	Фосфар	P	30,98
Кісларод	O	16,00	Хлор	Cl	35,46
Магній	Mg	24,32	Хром	Cr	52,01
Марганец	Mn	54,94	Цынк	Zn	65,38

5. Змяшчэнне рэчываў у стандартных канцэнтраваных растворах кіслот і шчолачаў

Кіслата, шчолач	Шчыль- насць	Колькасць			
		грамаў рэчыва ў 100 г	грамаў рэчыва ў 100 мл	грам- моляў у 1 л раст- вору	мілілітраў для прыгатавання 1л 1Н раствору*
HCl	1,19	37	44,0	12	83
H ₂ SO ₄	1,84	94	173,0	18	28
HNO ₃	1,42	70	99,0	16	62
CH ₃ COOH	1,06	99,5	106,0	17,5	57
NaOH	1,50–1,53	41–47	60,0–70,0	15–17	59–67
KOH	1,55	51	80,0	14	71

*Раствор патрабуе праверкі.

ЛІТАРАТУРА

1. Веретенников, А. В. Физиология растений: учебник для вузов / А. В. Веретенников. – 3-е изд. – М.: Академ. проект, 2006. – 479 с.
2. Веретенников, А. В. Практикум по физиологии древесных растений / А. В. Веретенников. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1993. – 256 с.
3. Гусев, М. В. Микробиология / М. В. Гусев. – 7-е изд., стер. – М.: Академия, 2007. – 462 с.
4. Крамер, П. Д. Физиология древесных растений / П. Д. Крамер, Т. Т. Козловский; пер. с англ. – М.: Лесная пром-сть, 1983. – 464 с.
5. Крючков, В. А. Практикум по физиологии древесных растений: учеб. пособие / В. А. Крючков, И. К. Булатова. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2006. – 248 с.
6. Лукомская, К. А. Микробиология с основами вирусологии: учебник для вузов / К. А. Лукомская. – М.: Просвещение, 1987. – 190 с.
7. Медведев, С. С. Физиология растений: учебник для вузов / С. С. Медведев. – СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2004. – 336 с.
8. Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер [и др.]. – 3-е изд. – М.: Агропромиздат, 1987. – 239 с.
9. Практикум по физиологии растений / под ред. Н. Н. Третьякова. – 3-е изд. – М.: Колос, 1990. – 271 с.
10. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Н. Н. Третьяков [и др.]; под ред. Н. Н. Третьякова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Колос, 2005. – 655 с.
11. Якушкина, Н. И. Физиология растений / Н. И. Якушкина, Е. Ю. Бахтенко. – М.: Владос, 2005. – 464 с.

ЗМЕСТ

Прадмова.....	3
1. ФІЗІЯЛОГІЯ РАСЛІННАЙ КЛЕТКІ	4
Лабараторная работа № 1. Уплыў знешніх фактараў на пранікальнасць клетачных мембран	4
Лабараторная работа № 2. Пранікальнасць цытаплазмы жывых клетак	6
Лабараторная работа № 3. Залежнасць актыўнасці амілазы ад кіслотнасці і тэмпературы асяроддзя	8
2. ВОДНЫ АБМЕН.....	11
Лабараторная работа № 4. Асматычны патэнцыял клетачнага соку (паводле Дэ Фрыза).....	11
Лабараторная работа № 5. Водны патэнцыял клеткі	16
Лабараторная работа № 6. Паглынанне вады раслінай	20
Лабараторная работа № 7. Залежнасць інтэнсіўнасці транспірацыі ад знешніх умоў	23
Лабараторная работа № 8. Паказчыкі водаабмену парастка дрэвавай расліны (паводле В. П. Мальчэўскага)	24
3. ФОТАСІНТЭЗ	28
Лабараторная работа № 9. Колькаснае ўтрыманне пігментаў у лістах	28
Лабараторная работа № 10. Хімічныя ўласцівасці пігментаў	32
Лабараторная работа № 11. Аптычныя ўласцівасці пігментаў	37
Лабараторная работа № 12. Фотасенсібілізуючае дзеянне хларафілу	40
Лабараторная работа № 13. Інтэнсіўнасць фотасінтэзу расліны	42
4. ДЫХАННЕ	46
Лабараторная работа № 14. Залежнасць інтэнсіўнасці дыхання насення ад тэмпературы	46
Лабараторная работа № 15. Дыхальны каэфіцыент насення	48
Лабараторная работа № 16. Пераксідазная актыўнасць расліннай тканкі	50
Лабараторная работа № 17. Каталазная актыўнасць расліннай тканкі	53
5. АСНОВЫ МІКРАБІЯЛОГІІ	56

Лабараторная работа № 18. Колькаснае змяшчэнне мікраарганізмаў у глебе	56
Лабараторная работа № 19. Спіртавое браджэнне	57
Лабараторная работа № 20. Аманіфікацыя мачавіны	60
Лабараторная работа № 21. Колькаснае змяшчэнне азотабактэру ў глебе	62
6. МІНЕРАЛЬНАЕ ЖЫЎЛЕННЕ	65
Лабараторная работа № 22. Уплыў мінеральных элементаў на рост міцэлія плесневага грыба	65
Лабараторная работа № 23. Агульная і рабочая адсарбавальныя паверхні каранёвай сістэмы (паводле Д. А. Сабініна і І. І. Коласава)	67
Лабараторная работа № 24. Паглыннанне каранямі іонаў амонію ў розных умовах кіслотнасці і тэмпературы	70
7. ПЕРАТВАРЭННЕ ЗАПАСНЫХ АРГАНІЧНЫХ РЭЧЫВАЎ	72
Лабараторная работа № 25. Асноўныя запасныя рэчывы дрэвавых раслін і іх ператварэнні ў зімовы перыяд	72
Лабараторная работа № 26. Ператварэнне запасных рэчываў пры прарастанні насення	75
Лабараторная работа № 27. Гідроліз крухмалу амілазай	77
8. АНТАГЕНЕЗ РАСЛІН	80
Лабараторная работа № 28. Заканамернасці росту расліны	80
Лабараторная работа № 29. Уплыў аўксіну на рост каранёў	83
Лабараторная работа № 30. Уздзеянне аўксіну на ўкараненне чаранкоў	85
Лабараторная работа № 31. Роставы рух раслін пад уздзеяннем гравітацыі	86
9. УСТОЙЛІВАСЦЬ РАСЛІН	88
Лабараторная работа № 32. Ахоўнае ўздзеянне цукру на цытаплазму пры замарожванні	88
Лабараторная работа № 33. Гарачаўстойлівасць раслін (паводле Ф. Ф. Мацкова)	90
Лабараторная работа № 34. Тэмпературны парог каагуляцыі цытаплазмы (паводле П. А. Генкеля)	91
Лабараторная работа № 35. Уздзеянне лятучых выдзяленняў раслін на прарастанне насення	92
ДАДАТАК	94
ЛІТАРАТУРА	99

Вучэбнае выданне

Баранаў Міхаіл Іосіфавіч
Каўбаса Мікалай Пятровіч

ФІЗІЯЛОГІЯ РАСЛІН З АСНОВАМІ МІКРАБІЯЛОГІІ

Дапаможнік
да лабараторных заняткаў

Рэдактар *Я. І. Гоман*
Камп'ютарная вёрстка *Д. В. Чарнушэвіч*
Карэктар *Я. І. Гоман*

Падпісана да друку 21.05.2012. Фармат 60×84¹/₁₆
Папера афсетная. Гарнітура Таймс. Друк афсетны.
Ум. друк. арк. 5,9. Ул.-выд. арк. 6,1.
Тыраж 200 экз. Заказ

Выдавец і паліграфічнае выкананне:
УА «Беларускі дзяржаўны тэхналагічны ўніверсітэт».
ЛІ № 02330/0549423 ад 08.04.2009.
ЛПІ № 02330/0150477 ад 16.01.2009.
Вул. Свядлова, 13а, 220006, г. Мінск.